

RISCOS PARA A SAÚDE PELA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL ÀS RADIAÇÕES CÓSMICAS EM PILOTOS DE LINHA AÉREA



Rodrigo Oliveira da Silva

Dissertação de Candidatura ao Grau de Doutor em Medicina

Orientador - Professor Doutor Juan J. Gestal Otero

Fotos da capa e contra-capa do Autor



Facultade de Medicina e Odontoloxía

Departamento de Psiquiatría, Radioloxía e Saúde Pública

RISCOS PARA A SAÚDE PELA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL ÀS RADIAÇÕES CÓSMICAS EM PILOTOS DE LINHA AÉREA

Rodrigo Oliveira da Silva

ISBN 978-84-9887-621-5 (Edición digital PDF)

Juan Jesús Gestal Otero, Catedrático de Medicina Preventiva e Saúde Pública da Universidade de Santiago de Compostela,

CERTIFICA

Que **D. Rodrigo Oliveira da Silva**, Licenciado em Medicina e Cirurgia pela Universidade do Porto, Portugal, realizou sob sua direcção os trabalhos de investigação da sua tese de Doutoramento sobre **“RISCOS PARA A SAÚDE PELA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL ÀS RADIAÇÕES CÓSMICAS EM PILOTOS DE LINHA AÉREA”**.

Revisto o presente trabalho, considera que reúne as condições para ser apresentado e defendido como **Tese Doutoral**.

E para que assim conste e produza os efeitos oportunos assina o presente certificado em Santiago de Compostela a 15 Setembro de 2010.

Dedicatória

À minha mãe...

in memoriam

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Juan Jesus Gestal Otero, pela aceitação do tema e generosidade com que assumiu a orientação desta dissertação.

À Universidade de Santiago de Compostela (USC), pelo acolhimento na sua Comunidade Científica.

À Administração do Finibanco, S.A., pela gentileza em conceder a facilidade para a frequência do curso.

À Administração da Vicaima – Indústria de Madeiras e Derivados S.A., por ter disponibilizado a população para a amostra em estudo (controle), e me permitir frequentar o curso.

À Administração da INI, S.A. pela colaboração prestada na elaboração dos desenhos do protótipo e kit biológico, bem como no fabrico da caixa para acondicionar as amostras.

À Associação Portuguesa de Pilotos de Linha Aérea (APPLA) pela disponibilidade e abertura na recolha dos elementos necessários ao desenvolvimento do tema deste trabalho, bem como na motivação para a colaboração junto dos seus associados.

Aos Comandantes Filipe Durval Ribeiro e João Durão, past-presidente e presidente da APPLA e a toda a sua direcção.

À Internacional Federation of Airline Pilot Association (IFALPA) e à European Cockpit Association (ECA) pelo apoio e facilidades concedidas na colheita dos dados do seu espólio documental.

Ao Departamento de Química da Universidade Nova de Lisboa pelo precioso contributo na realização das análises aos produtos biológicos em estudo, bem como na produção dos produtos biológicos que constituem o “kit” a utilizar a bordo das aeronaves.

À Direcção do Laboratório Análises Clínicas Dr. Luís Aguiar Soares pela colaboração prestada na realização das análises clínicas, em particular à Dra. Sandra Soares pelo seu elevado contributo científico.

À TAP Portugal S.A., pelas facilidades concedidas no acesso às suas instalações, e a bordo das aeronaves.

Aos Professores Doutores Pedro Tavares, Alice Pereira e Filipe Folgosa pela sempre presente disponibilidade em construtivas discussões, bem como na realização das análises de produtos biológicos de suporte a este trabalho.

Aos Professores Doutores Marco Silva e Márcia Guilherme pelo seu envolvimento e colaboração.

Ao Professor Doutor Rui Duarte, como elo de ligação na promoção de contacto com o Departamento de Química da Universidade Nova de Lisboa (DQUNL) e ainda pela colaboração no início do trabalho.

Ao Departamento de Fitoterapia da Universidade de Évora na pessoa da Professora Doutora Maria João Cabrita, na colaboração que prestou para a realização das análises dos produtos biológicos, quantificação de 8-hidroxi-2'desoxiguanina.

À Professora Doutora Raquel Garcia do ICAM (Instituto de Ciências Agrárias Mediterrânicas) da Universidade de Évora pelo seu contributo no trabalho.

Ao sempre presente Comandante Paulo Soares, e àqueles pilotos que com entusiasmo e interesse se disponibilizaram e contribuíram para levar a cabo este trabalho.

Ao secretariado da direcção da APPLA, não esquecendo a Célia Alves.

Ao Dr. Luís Paulo Valente que trouxe a mais-valia nos diálogos que tivemos.

À Margarida Fernandes na permanente disponibilidade e colaboração durante todo o período deste trabalho.

À minha família, mulher e filhos, em particular o Zé Arlindo, bem como a todas as pessoas que directa ou indirectamente tiveram influência neste trabalho, tendo de uma maneira ou outra contribuído para que o levasse a bom fim.

A todos, um sincero MUITO OBRIGADO

Índice

Índice

Índice.....	I
Índice.....	III
Resumo	VII
Resumo	IX
Abstract.....	XIII
Abstract.....	XV
Abreviaturas.....	XVII
Institucionais	XIX
Técnico / Científicas	XIX
Definições/Glossário	XXI
Definições/Glossário	XXIII
I. Introdução	1
As radiações	3
Efeitos das radiações na biologia.....	9
Efeitos das radiações cósmicas nos pilotos de linha aérea.....	18
II. Planeamento do trabalho.....	29
Planeamento do trabalho	31
III. Material e métodos.....	33
Desenho do estudo	35
Revisão bibliográfica	36
Populações de referência e controlo	37
Amostras populacionais.....	37
Questionário	39
Consentimento informado.....	39
Amostras biológicas	42
Medição da capacidade antioxidante no sangue por EPR.....	42

Quantificação de 8-hidroxi-2'desoxiguanina	44
Quantificação de bitirosina	46
Doseamento da ferritina nas amostras de sangue	47
Doseamento das proteínas totais nas amostras de sangue	48
Doseamento da hemoglobina nas amostras de sangue	49
Doseamento da creatinina nas amostras de urina	50
Medição das radiações cósmicas	51
Método directo	51
Método indirecto SIEVERT	54
Método indirecto CARI-6	55
“Kit” biológico	57
Análise multivariável.....	60
IV. Resultados.....	63
Radiações cósmicas recebidas	65
Radiação cósmica recebida e efeitos nas amostras do kit biológico	77
Capacidade de eliminar ROS e de reparação de DNA com recurso a uma análise multivariáveis.....	81
Distinção das duas amostras em estudo.	81
Distinção entre tipos de pilotos (médio curso versus longo curso).....	89
V. Discussão.....	91
Condicionantes do estudo	93
Metodologia.....	94
Resultados.....	99
VI. Conclusões e sugestões	109
Conclusões	111
Sugestões	112
VII. Conclusions and Suggestions.....	113
Conclusions	115
Suggestions	115

VIII.Bibliografia	117
Bibliografia	119
IX.Anexos	131
Anexo I - Protocolo de Cooperação com APPLA	133
Anexo II - Protocolo de Colaboração com FCT	137
Anexo III - Informação de Serviço	141
Anexo IV – Credencial	143
Anexo V – Protótipo	145

Resumo

Resumo

É conhecido que a radiação ionizante pode produzir lesões ao nível do DNA, proteínas e outras moléculas. Para determinar a possibilidade e extensão de danos induzidos pelas radiações cósmicas, este estudo contempla a realização de vários testes clínicos e bioquímicos. A acontecer, as possíveis lesões poderão ser causadas pela produção de espécies radicalares, como os radicais anião superóxido e hidroxilo. Nos possíveis danos a nível celular estarão incluídos, hipoteticamente, danos devido a reacções de oxidação-redução de nucleótidos, hidrolizações nas cadeias simples e cadeias duplas de ácidos nucleicos (DNA, mas também RNA), bem como *cross-links* entre moléculas de DNA, de proteínas ou mesmo entre moléculas de DNA e proteína. Para diferentes organismos (de bactérias ao ser humano), e em condições normais, vários sistemas são activados com a presença dos radicais. Entre eles estão incluídas as enzimas dismutases do superóxido, peroxidases, catalases, ferritinas e outras enzimas que reagem com espécies reactivas de oxigénio (*Reactive Oxygen Species*, ROS) ou substratos que podem ajudar à formação de ROS para evitar ou minimizar danos oxidativos.

Os estudos existentes apontam para uma fraca correlação entre um único parâmetro/patologia e a exposição às radiações cósmicas às quais os pilotos de linha aérea estão inerentemente sujeitos. Numa primeira análise poder-se-á concluir que os níveis de exposição não são significativos, mas existe o perigo potencial de estarmos a interpretar de forma incorrecta os dados publicados, ou de não termos dados suficientes para a correlação necessária. Considerou-se benéfica a utilização combinada de testes clínicos de rotina em medicina com testes especialmente desenvolvidos para o efeito e uma análise multiparamétrica dos mesmos. Procurou-se que estes testes estivessem desenhados para a monitorização das respostas dos sistemas de defesa e reparação de danos.

Foram desenhados e executados testes baseados na espectroscopia de ressonância paramagnética electrónica, que permitem quantificar a capacidade de destruição de espécies radicalares do sangue. Mais, os produtos da oxidação do DNA e danos proteicos, no caso, a 8-hidroxi-2'desoxiguanina foi quantificada num fluido biológico (urina). Desta forma, podem ser feitas tentativas para monitorizar danos através de produtos metabólicos de stress oxidativo causado pela exposição ocupacional às radiações cósmicas.

Foi também tentada a obtenção de dados para a resposta fisiológica à capacidade antioxidante através de ensaios '*in vitro*', com recurso a um "kit biológico" composto por amostras de proteínas e ácidos nucleicos. Este Kit foi exposto às radiações cósmicas no cockpit, durante o voo, tendo sido os danos

monitorizados com metodologias bioquímicas correntes, tais como métodos electroforéticos.

Simultaneamente, a exposição dos pilotos de linha aérea às radiações cósmicas foi avaliada por métodos directo e indirectos. Como método directo recorreu-se à utilização de um contador Geiger (TEPC). O método SIEVERT foi usado como método indirecto de avaliação da exposição às radiações cósmicas. Neste caso, todos os voos monitorizados foram utilizados para o cálculo/estimativa das doses recebidas e os resultados comparados com os valores obtidos pelo método directo. Em alguns casos seleccionados foi ainda utilizado o método CARI-6, também usado por diversas companhias de linha aérea, permitindo assim uma comparação mais alargada entre diferentes metodologias.

Para todos os pilotos envolvidos no estudo foi calculada uma estimativa da dose recebida durante o período da duração da investigação através do método SIEVERT, sendo neste caso avaliados 7405 voos com duração correspondente a 25668 horas.

No contexto do estudo foram utilizadas duas amostras constituídas por 49 expostos (pilotos de linha aérea da TAP Portugal e membros da APPLA) e 35 de controlo (força de trabalho da Vicaíma, S.A.). Estas amostras resultam da aplicação de critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos e não ultrapassando um número global que impossibilitasse o estudo por motivos de recursos humanos e financeiros.

Os resultados obtidos permitem concluir que existe a possibilidade de, com base nos testes efectuados, distinguir as duas amostras em estudo. Assim podemos salientar que as variáveis escolhidas com base na monitorização da capacidade antioxidante e de reparação de danos a nível de moléculas biológicas são adequadas para estabelecer um provável perfil clínico dos pilotos de linha aérea.

Os resultados são também bastante claros em relação a um dogma existente na literatura. Ainda que limitados pela dimensão da amostra de pilotos do estudo, com características próprias das rotas efectuadas pela TAP Portugal, é notória a diferença da dose recebida por pilotos de médio e longo curso. Após normalização das doses recebidas para as horas voadas, podemos constatar que os pilotos de médio curso possuem em média valores significativamente maiores de dose recebida do que os pilotos de longo curso.

É de ressaltar a novidade com a aplicação dos testes bioquímicos a um estudo deste género, que pela primeira vez tenta correlacionar diferentes variáveis com possíveis alterações fisiológicas.

Estamos em crer que o futuro sucesso desta metodologia passa pela sua aplicação a um número elevado de indivíduos, permitindo assim passar para uma utilização em larga escala na comunidade, aí sim, já com interesse em diagnóstico clínico corrente.

Palavras – Chave: creatininúria, cromatografia gasosa (GC-FID, GC/MS), espécies reactivas de oxigénio (*reactive oxygen species, ROS*), exposição ocupacional, ferritina, hemoglobina, pilotos de linha aérea, proteínas totais, radiações cósmicas, ressonância paramagnética electrónica (RPE), stress oxidativo e 8-hidroxi-2'-desoxiguanina (8OHG).

Abstract

Abstract

It is well known that ionizing radiation can cause lesions to DNA, protein and other macromolecules. To assess not only the probability but also the extension of cosmic radiation induced damage, several clinical and biochemical tests are considered in this work. Possible lesions at cellular level will be probably caused by the production of highly reactive radical species such as the superoxide anion and the hydroxyl radical. Cellular damage will include damage due to redox reactions of nucleotides, single and double strand hydrolysis of nucleic acids (DNA or RNA), as well as cross-links between DNA molecules, protein molecules or both. For different organisms (from bacteria to men), and in normal conditions, several protection systems become active in the presence of radical species. To avoid, or minimize, oxidative damage enzymes such as superoxide dismutases, peroxidases, catalases, ferritins and others are expressed to deal with reactive oxygen species (ROS) or substrates that can lead to ROS formation.

The studies performed up to now show a weak correlation between a single parameter/pathology and the amount of cosmic rays exposure at which pilots are intrinsically subject to. A first look to the published data seems to point to an absence of risk in case of cosmic radiation exposure. However, there is a possibility that some of the published data is being misunderstood. As such, it was necessary to use a combined approach of current clinical tests and specially developed biochemical tests in order to use a multiparametric analysis. The tests were chosen either to monitor ROS defense system responses or damage repair systems.

Special tests were designed based on DNA and protein oxidation products (such as 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) were quantified in a biologic fluid (urine). This way, metabolic products of oxidative stress, caused by cosmic radiation exposure can be monitored.

A different approach was also tested to obtain data about antioxidant capacity, electron paramagnetic resonance (EPR) was used in order to quantify the blood/serum capacity to destroy radical species. Besides this "in vitro" approach, a "biologic kit" was assembled with protein and nucleotide acid samples and exposed in the cockpit to cosmic radiation. Samples were monitored using current biochemical methodologies such as electrophoresis.

Two populations, comprised by 49 exposed individuals (Tap Portugal airline pilots and members of APPLA) and 35 control individuals (from Vicaima, SA workforce), were used. For each population, individuals were chosen using predetermined inclusion and exclusion criteria not surpassing a maximum number of individuals that would still made possible the study from an economic and human resources point of view.

Simultaneously, airline pilots' exposure to cosmic radiation was evaluated by direct and indirect means. To measure exposure values a Geiger counter was used (TEPC type). For indirect (prediction) the SIEVERT method was used. In this case, all monitored flights were used to calculate the received dose and results compared to values obtained by the direct method. A total of 7405 flights, corresponding to 25668 hours were used. In selected cases, the CARI- 6 (also used by different airlines) method was also used as a comparison between different methodologies. For all pilots involved, a received dose was estimated for the duration of the study using the SIEVERT method.

The results obtain show that it is possible to distinguish both populations. As such, we can postulate that the monitored parameters, chosen based on antioxidant capacity and damage repair at biological molecules level, are acceptable to establish a probable clinic profile of airline pilots.

The results are also very clear regarding a current literature dogma. Even considering that a small population was monitored, with characteristic flight routes, it is notorious the difference between the received dose by medium- and long-haul. After received dose values normalization to flight hours, it is possible to recognize that medium-haul pilots have in average significantly higher received doses than long-haul pilots.

Finally, it is important to point out that the biochemical tests (and the multiparametric approach) were used for the first time in a study of this type. We believe that the future success of this methodology relies on its application to a greater number of individuals, thus enabling a large-scale use in the airline community becoming of interest as a normal clinic diagnostic procedure.

Keywords: urine creatinine, gas chromatography (GC-FID, GC / MS), reactive oxygen species (ROS), occupational exposure, ferritin, hemoglobin, airline pilots, total protein, cosmic radiation, electron paramagnetic resonance (EPR), oxidative stress and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8OHG).

Abreviaturas

Institucionais

APPLA - Associação dos Pilotos Portugueses de Linha Aérea

EASA - European Aviation Safety Agency

ECA - European Cockpit Association

EU - Conselho da União Europeia

FAA - Federal Aviation Administration

IATA - Internacional Air Transport Association

ICAO - Internacional Civil Aviation Organization

IFALPA - International Federation of Air Line Pilots' Associations

ILO - International Labor Organization

ICRP - International Commission on Radiological Protection

JAA - Joint Aviation Authority

MTOC - Microtubular Organizing Center

NRL - National Radiation Laboratory

NTSB - National Transportation Safety Board

OIT - Organização Internacional do Trabalho

Técnico / Científicas

8HodG - 8-hidroxi-2'desoxiguanina

ALARA - As Low As Reasonably Achievable

AP - apurínico-apirimídico

ATM - Ataxia Telangectasia Mutated

ATR - ATM and Rad3-related

BSTFA - N,o-Bis (Trimethylsilyl) trifluoroacetamide

BUN - Blood Urea Nitrogen

CAK - CdK Activating Enzyme

CKI - CdK Inibitor Protein

CdK - Cycline-Dependent Kinases

CE - Equivalentes Celulares

DNA - Deoxyribonucleic acid

DSB - Double-strand breaks

EPCARD - European Program Package for the Calculation of Aviation Route

EPR - Electron paramagnetic resonance

GC/MS - Gas chromatography-mass spectrometry

GC-FID - Gas chromatography coupled with flame ionization detector

LET - Linear Energy Transfer

NEBD - Nuclear Envelope BreakDown

PCAIRE - Predictive Code for Aircrew Radiation Exposure

RF - Radio frequência

RNA - Ribonucleic acid

RNS - Reactive Nitrogen Species

ROS - Reactive Oxygen Species

SPE - Solid phase extraction

SSB - Single stranded breaks

TEPC - Tissue-Equivalent Proportional Counter

UFCs - Unidades Formadoras de Colónias

Definições/Glossário

Definições/Glossário

No decorrer deste trabalho foram apresentados, num panorama teórico, algumas definições de conceitos físicos:

Armadilhas de *spin* – moléculas utilizadas para captar radicais livres com tempos de vida curtos, por forma a que os mesmos possam ser analisados por técnicas espectroscópicas como EPR. São normalmente compostos azotados que formam aductos quando reagidos com os radicais livres em solução. Do ponto de vista espectroscópico, os aductos formados são característicos de um determinado tipo de radical.

Bequerel (Bq) – unidade de medida no Sistema Internacional (SI) para radioactividade, definido como sendo a quantidade de material no qual um núcleo decai por segundo. É portanto equivalente a s^{-1} . A medida anterior era o Curie (Ci), definido como $1 \text{ Bq} = 2.70 \times 10^{-11} \text{ Ci}$.

Contador Geiger – equipamento normalmente utilizado para a detecção e quantificação de radiação ionizante. Estes equipamentos são normalmente constituídos por um tubo preenchido por um gás inerte, que é electricamente carregado quando atravessado por uma partícula ou fotão de radiação. Detectam normalmente partículas β e radiação γ , sendo que alguns modelos podem mesmo detectar partículas α .

Cross-link – tipo de ligações químicas que ligam duas cadeias polipeptídicas, sendo a natureza desta ligação normalmente covalente.

Dose – abreviatura de dose absorvida ($1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/Kg}$), dose equivalente, dose efectiva ou dose ponderada ($1 \text{ Sv} = 1 \text{ J/Kg}$). A definição de doses baixas, medias e elevadas variam bastante na literatura. Para este estudo serão consideradas baixas de 0 a 100 mGy (mSv), médias de 100 até 1 Gy e elevadas de 1 Gy até às doses mais elevadas usadas para fins terapêuticos (de 20 a 60 Gy).

Dose efectiva – soma de todas as doses das diversas radiações recebidas por todos os órgãos multiplicado pelos factores correspondentes a cada órgão e a cada tipo de radiação, tal como definido pela International Commission for Radiological Protection (ICRP). É definida como $1 \text{ Sv} = 1 \text{ J/Kg} = 100 \text{ rem}$. Doses efectivas equivalentes devem, independentemente da idade ou sexo, corresponder ao mesmo risco. Numa situação de exposição uniforme de corpo inteiro a um determinado tipo de radiação, a dose efectiva deve corresponder à dose absorvida a multiplicar pelo factor da radiação correspondente.

Dose equivalente – correspondente à dose absorvida multiplicada pelo factor de qualidade Q, que representa, do ponto de vista de controlo e protecção

radiológica, a eficiência da radiação relativamente à radiação ionizante dispersa. É definida como $1 \text{ Sv} = 1 \text{ J/Kg} = 100 \text{ rem}$.

Electrão-volt (eV) – unidade de energia em que $1 \text{ eV} = 1.6 \times 10^{-19} \text{ J} = 1.6 \times 10^{-12} \text{ erg}$. 1 eV é equivalente à quantidade de energia recebida por um electrão quando submetido a uma diferença de potencial de 1 V.

Epidemiologia – estudo dos factores determinantes da frequência das doenças em humanos. As duas principais vertentes são o estudo das doenças crónicas e o estudo dos casos tipo.

EPR – *Electronic Paramagnetic Resonance*, Ressonância Paramagnética Electrónica (RPE) em Português. Técnica baseada fundamentalmente nas propriedades paramagnéticas do electrão. O seu comportamento na presença de um campo magnético externo depende da vizinhança molecular (núcleos e electrões desemparelhados próximos), pelo que esta técnica permite obter informações sobre a estrutura e configuração electrónica do centro paramagnético.

Etiologia – ciência ou o estudo da causa de uma doença.

Euratom – Agência Europeia de Energia Atómica

Exposição – condição de estar em contacto com um agente físico ou químico.

Exposição potencial – Exposição de cuja ocorrência não pode haver a certeza, mas cuja probabilidade pode ser previamente estimada.

Fonte de radiação natural – fontes de radiação ionizante de origem natural, terrestre ou cósmica.

Gray (Gy) – unidade SI correspondente a dose absorvida. É definida como $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/Kg} = 100 \text{ rads}$.

High-LET radiation – radiação composta por neutrões ou partículas carregadas pesadas tais como, prótons ou partículas alfa, capazes de conduzir à densa ionização de partículas ao nível molecular ($L > 10 \text{ keV}/\mu\text{M}$).

Incidência – número de novos casos numa determinada população, num período determinado.

International Commission for Radiological Protection (ICRP) – organização internacional independente responsável pelas recomendações e linhas de orientação no que respeita à protecção contra as radiações ionizantes.

International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU) – organização internacional independente responsável pelas recomendações e linhas de orientação no que respeita às unidades, quantidades e medições da radiação.

Linear Energy Transfer (LET) – energia media perdida pelas partículas carregadas aquando das colisões electrónicas por unidade de comprimento (keV/mm).

Low-LET radiation – radiação composta por raios-X, raios gamma e partículas carregadas tais como electrões, capazes de conduzir a uma ionização dispersa ao nível molecular ($L < 10 \text{ keV}/\mu\text{M}$).

Membros do público – elementos da população, com excepção dos trabalhadores expostos, dos aprendizes e dos estudantes durante as suas horas de trabalho e de indivíduos durante exposições radiológicas médicas, indivíduos que, com conhecimento de causa e de livre vontade participem no apoio e reconforto a pacientes submetidos a diagnóstico ou tratamento médico, ou ainda de indivíduos que voluntariamente participem em programas de investigação médica e biomédica.

Período de serviço de voo – intervalo de tempo compreendido entre o momento, designado pelo operador, em que o tripulante se apresenta para efectuar um voo ou série de voos e o momento em que a aeronave se imobiliza definitivamente, após o último sector voado.

Prevalência – número de casos de uma determinada doença num determinado espaço de tempo por unidade de população, normalmente 100 mil pessoas.

Radiação – energia emitida, sob a forma de ondas ou partículas, por átomos radioactivos como resultado do decaimento radioactivo provocado artificialmente, como por exemplo através de raios-X.

Radiação Gamma – radiação electromagnética de baixo comprimento de onda, de origem nuclear, semelhante aos raios-X, mas possuindo, normalmente, energias mais elevadas (de 100 keV a vários milhões de eV).

Radioactividade – capacidade que um núcleo tem de decair com a respectiva emissão, usualmente, de radiação gamma. Pode também ser dividida em radiação natural (através da capacidade que alguns radionucleotidos têm de emitir radioactividade) e radiação artificial (derivada da intervenção humana produzida por fissão, fusão, bombardeamento de partículas ou irradiação electromagnética).

Risco – probabilidade de sofrer uma lesão, perda ou doença. É uma medida da probabilidade de sofrer um dano através de uma acção ou inacção.

Risco (avaliação do) – processo pelo qual os riscos associados a acções ou inacções são identificados e contabilizados.

Sievert (Sv) – nome da unidade SI correspondente a dose equivalente.

Tempo de voo total (Block time) – tempo decorrido entre o momento em que a aeronave se desloca do local onde se encontra estacionada com o objectivo de descolar até ao momento em que estaciona e os motores param.

Trabalhadores expostos – pessoas submetidas durante o trabalho, por conta própria ou de outrem, a uma exposição decorrente de praticas abrangidas pelo Decreto-lei nº 222/2008, de 17 de Novembro, susceptíveis de resultar uma dose superior a qualquer um dos limites de dose fixados para os membros do publico.

Unidades SI – unidades definidas pelo *International System of Units*, definidas pelo *General Conference on Weights and Measurements* em 1960. Estas têm por base unidades como o metro (m), o kilograma (kg), o segundo (s) e as suas combinações, com nomenclaturas especificas como por exemplo a energia ($1 \text{ J} = 1 \text{ kg m}^2/\text{s}^2$) ou dose absorvida ($1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/Kg} = 1 \text{ m}^2/\text{s}^2$).

United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR) – grupo de trabalho das Nações Unidas que publica periodicamente um relatório acerca das fontes e efeitos das radiações ionizantes.

Variabilidade – diversidade de uma característica ou quantidade dentro de uma determinada população. Tal diversidade é intrínseca na natureza e é normalmente assumida como sendo aleatória. Desta forma pode ser representada por uma frequência de distribuição.

Apresentação matemática de alguns conceitos utilizados no tratamento dos dados.

1.1 – Dose absorvida, D

$$D = \frac{d\varepsilon}{dm}$$

Onde D é a dose absorvida por unidade de massa, $d\varepsilon$ é a quantidade de energia transmitida pela radiação ionizante para um determinado volume de matéria e dm representa a massa desse volume de matéria.

1.2 – Dose efectiva aplicada, $E(\tau)$

$$E(\tau) = \sum_T w_T H_T(\tau)$$

A dose efectiva aplicada, $E(\tau)$, é a quantidade de dose efectivamente recebida, H_T , por um órgão ou tecido, multiplicada pelo coeficiente de massa,

w_T , do respectivo tecido. Este somatório é referente ao total de anos no qual o tecido recebeu a dose aplicada.

1.3 – Dose equivalente aplicada, $H_T(\tau)$

$$H_T(\tau) = \int_{t_0}^{t_0 + \tau} H(t) dt$$

A dose equivalente aplicada, $H_T(\tau)$, é definida aqui como o integral da taxa de dose recebida por um tecido num determinado espaço de tempo, t .

1.4 – Dose efectiva

$$E(\tau) = \sum_T w_T H_T(\tau) = \sum_T w_T \sum_R w_R D_{T,R}$$

1.5 – Dose equivalente

$$H_T(\tau) = \sum_R w_R D_{T,R}$$

2 - Z-score – Estatisticamente o Z-score indica quanto afastado está um valor observado do valor médio, em fracções do desvio padrão. O cálculo do Z-score é feito da seguinte forma:

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma}$$

Em que x é o valor observado, μ o valor médio e σ o desvio padrão.

Este, um conhecido método de normalização que permite comparar variáveis com grandezas diferentes pois um dos benefícios da metodologia é tornar o valor final adimensional (i.e. em medidas de desvio padrão) e da mesma ordem de grandeza.

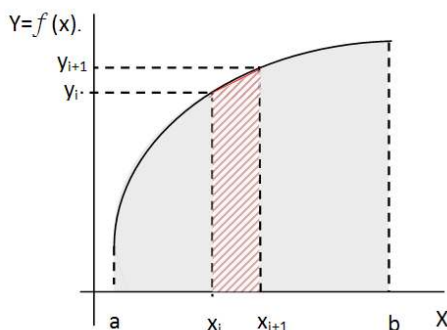
3 - Tabela de conversão (Kms em pés)

Altitude (Km)	0	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0	10.5	11.0	11.5	12.0	12.5
Altitude (ft)	0	23100	24750	26400	28050	29700	31350	33000	34650	36300	37950	39600	41250

4- Método dos Trapézios – Este método permite calcular, por aproximação, o valor do integral de uma função f , num determinado intervalo $[a,b]$.

Dividindo o intervalo de integração $[a,b]$ em n partes iguais obtém-se n intervalos de amplitude $h=(b-a)/n$.

Constrói-se assim uma tabela de $n+1$ pontos (x_i, y_i) com i variando de 0 a n , sendo x_0 e x_n respectivamente o valor inferior (a) e superior (b) de X e cada y_i o valor $f(x_i)$. Tem-se assim n intervalos e $n+1$ pontos.



Unindo os pontos $(x_i, 0)$, $(x_{i+1}, 0)$, (x_i, y_i) e (x_{i+1}, y_{i+1}) obtêm-se n trapézios. A soma das áreas destes trapézios será aproximadamente a área sob a curva, isto é entre a curva e o eixo dos X . Assim, a referida soma das áreas não é mais que uma aproximação do integral de f entre a e b , que será tanto melhor aproximação quanto maior for o valor de n , ou seja, maior o número de trapézios.

Como se pode ver pela figura a área de cada trapézio é dada por:

$$A_i = \frac{h(y_i + y_{i+1})}{2}$$

e a área total:

$$A = \sum_{i=0}^{n-1} A_i$$

ou

$$A = \frac{h(y_0 + y_1)}{2} + \frac{h(y_1 + y_2)}{2} + \dots + \frac{h(y_{n-1} + y_n)}{2}$$

Donde

$$A = h \left(\frac{y_0}{2} + \sum_1^{n-1} y_i + \frac{y_n}{2} \right)$$

5- Método de Simpson- Este método é semelhante ao método dos trapézios, com a diferença de usar para a aproximação da função segmentos de parábola em vez de segmentos de recta.

I. Introdução

As radiações

Existem diferentes tipos de radiação que podem ser classificados de acordo com os efeitos que produzem na matéria e que, por simplicidade, podemos separar em duas categorias principais: i) radiação não ionizante e ii) radiação ionizante.

A primeira é a radiação que, em interacção com a matéria biológica não possui a energia suficiente para provocar uma ionização, ou seja, não possui energia suficiente para remover electrões de átomos ou às moléculas com as quais interactuam.

São normalmente consideradas radiações não ionizantes aquelas que possuem comprimentos de onda superiores a 380 nm (ultravioleta próximo, visível, infravermelho, microondas, ondas de rádio e RF de baixa frequência) cuja energia consegue apenas promover electrões a estados excitados.

Por outro lado, a radiação ionizante é constituída por fotões ou partículas capazes de determinar, directa ou indirectamente, a formação de iões.

Exemplos de radiações ionizantes são raio-X, raios γ e as radiações ultravioleta e cósmica.

É sabido que a exposição a níveis muito elevados de radiação ionizante pode causar danos severos nas células e, inclusivamente, levar à sua morte. A exposição a altas doses pode levar à morte imediata do indivíduo e as suas consequências tardias por exposição prolongada pode levar ao desenvolvimento de cancro ou a malformações genéticas resultante de danos ocasionados nas células reprodutoras.

Considera-se que são mais difíceis de prever os efeitos dos níveis de radiação ionizante em baixas dosagens, tais como radiação cósmica. Pois, neste caso é necessário ter em linha de conta a susceptibilidade individual, bem como os mecanismos de auto-reparação do organismo.

A radiação cósmica foi descoberta no início do século XX por Victor Franz Hess numa experiência com balões atmosféricos que lhe rendeu o Prémio Nobel da Física em 1936, em conjunto com Carl David Anderson¹. A evidência do constante bombardeamento de radiação cósmica na Terra conduziu à incerteza em relação aos efeitos nocivos que esta pode ter em altitude, tendo

¹ http://nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1936/press.html.

mais tarde vindo a determinar-se a radiação cósmica como uma agente carcinogéneo².

A radiação cósmica que incide continuamente sobre a atmosfera terrestre é constituída por um fluxo primário isotrópico (i.e. independente da direcção) de partículas altamente energéticas e núcleos, provenientes do Sol ou do espaço interestelar e também por radiação secundária que resulta da interacção das partículas primárias com a atmosfera.

A radiação cósmica primária pode ser caracterizada de acordo com o seu nível energético, distinguindo-se assim duas componentes: radiação cósmica galáctica e solar. Importa ainda destacar que a radiação pode ter origem extragaláctica que, apesar de ter energia superior a 1020 eV, é considerada desprezável, uma vez que aproximadamente uma partícula com origem extragaláctica por metro quadrado e por ano atinge a superfície terrestre³.

A componente galáctica da radiação cósmica corresponde a uma larga percentagem de radiação que atinge a atmosfera terrestre. Os raios cósmicos galácticos são partículas altamente energéticas aceleradas por ondas de choque provavelmente provenientes de explosões de supernovas. A matéria remanescente, a expansão das nuvens de gás e os campos magnéticos resultantes destas explosões podem durar milhões de anos, durante os quais algumas partículas ganham energia suficiente para escaparem para o espaço interestelar. A energia da radiação cósmica resultante irá depender da força do campo magnético e do tamanho da região de aceleração.

Tabela 1- Composição da radiação cósmica

<i>Partículas</i>	<i>Frequência</i>
Núcleos de hidrogénio (protões)	85%
Núcleos de hélio (partículas α)	12.5%
Núcleos de átomos pesados	1%
Electrões	1.5%

A tabela 1 representa a radiação cósmica galáctica que é maioritariamente constituída por núcleos atómicos circundados por electrões de energia muito

² Lim MK. Cosmic rays: are air crew at risk? Occupational and environmental medicine. 2002 Jul;59(7):428-32; discussion 32-3.

³ Melo PEL. Avaliação de doses de radiação cósmica para tripulações militares de aeronaves de transporte. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa; 2008.

elevada⁴. A intensidade da componente nuclear pode atingir uma faixa de energia que vai desde alguns GeV até cerca de 1 TeV⁵.

Noutro sentido, uma parte minoritária da radiação cósmica primária é proveniente do Sol. Os raios cósmicos solares são partículas de baixa energia (entre 10 e 100 MeV) com uma composição semelhante à radiação galáctica. Têm origem em erupções solares, ventos solares ou explosões violentas na superfície do Sol. As erupções e ventos solares são constituídos por raios-X, raios γ e partículas carregadas (prótons, electrões e iões pesados) que emergem radialmente do Sol a velocidades supersónicas, podendo atingir energias até 10 GeV. No entanto, partículas de origem solar desta energia chegam à órbita terrestre, em média, apenas uma vez por década⁶.

A actividade solar é um factor de modulação do fluxo de radiação cósmica primária, que é caracterizado pelo número de manchas solares à superfície, quanto maior for o número de manchas, maior será a actividade, e mais intenso será o campo magnético solar⁷. Esta sequência de eventos origina ventos solares cada vez mais fortes, o que aumenta a probabilidade de ocorrência de erupções solares. Os constantes campos magnéticos solares fazem com que se crie uma esfera de influência solar conhecida como heliosfera. A heliosfera é uma imensa “bolha” magnética que inclui o Sistema Solar, ventos solares e o campo magnético solar, para lá da qual o Sol deixa de ter influência. Esta esfera de influência do Sol move-se ao longo do meio interestelar, formando uma interface heliosférica e que se estende muito para além do Sistema Solar (Figura 1).

O Sol tem um campo magnético variável que inverte a polaridade a cada 11 anos, durante os quais o número de manchas solares varia, observando-se períodos de actividade solar máxima e mínima. Em períodos de actividade solar máxima, o número manchas solares à superfície aumenta, intensificando os ventos solares e a quantidade de matéria ejectada pelo Sol nas suas

⁴ Pojea M, Vukovic B, Varga M, Radolic V, Miklavcic I, Faj D, et al. Relation between galactic and solar cosmic radiation at aviation altitude. *Adv Space Res.* 2008 Dec;42(12):1913-6.

⁵ Apel U. Human factors and health in Space tourism. 2nd International Symposium on Space Tourism. Bremen; 1999.

⁶ Simpson JA. Elemental and isotopic composition of the galactic cosmic-rays. *Annu Rev Nucl Part Sci.* 1983;33:323-81.

⁷ Lantos P. The Sun and its effects on the Terrestrial environment. *Radiation protection dosimetry.* 1993;48(1):27-32.

erupções⁸. Os campos magnéticos que são transportados pelos fortes ventos solares interagem com as partículas de origem galáctica que chegam ao sistema solar, desviando a sua trajectória para direcções diferentes da Terra ou atenuando a sua capacidade de penetração na atmosfera terrestre. Nestes períodos a componente galáctica da radiação cósmica deixa de ser dominante face à componente solar, menos energética, pelo que são detectados valores mínimos de dose.

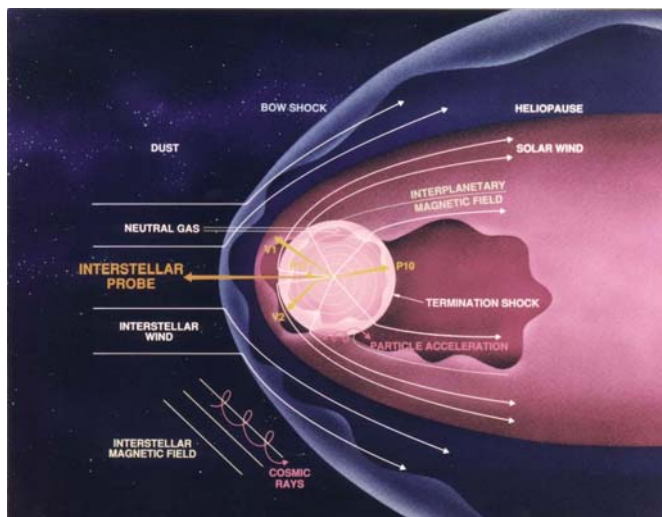


Figura 1- Esquema da esfera de influência do sol dentro e fora do sistema solar, fonte: <http://Interstellar.jpl.nasa.gov>

Por outro lado, em períodos de actividade solar mínima, a helioesfera torna-se menos intensa e não se observa o efeito atenuador dos campos magnéticos solares, pelo que a radiação cósmica de origem galáctica torna-se dominante e mais energética nesta fase, o que corresponde a um valor máximo de dose.

Podemos verificar na figura 2 o número de manchas solares (curva inferior) e monitorização de neutrões derivados de radiação cósmica para os ciclos solares 20 a 23 (1964 a 2002). De notar que o ciclo solar 23 terminou em 2008 e que neste momento nos encontramos num ponto próximo do mínimo solar.

As partículas de origem galáctica que não são deflectidas pelo campo magnético solar encontram posteriormente o campo magnético terrestre, que é uma barreira eficaz contra este tipo de radiação em algumas zonas do globo terrestre. O efeito protector da magnetosfera terrestre depende da latitude, longitude e azimute.

⁸ Bagshaw M. Cosmic radiation in commercial aviation. Travel medicine and infectious disease. 2008 May;6(3):125-7.

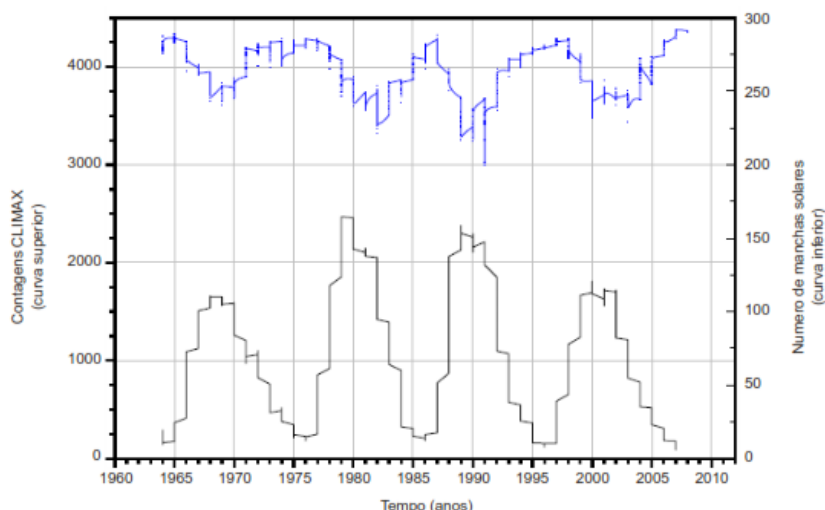


Figura 2-Médias mensais de raios cósmicos (Clímax, Colorado) e médias mensais de manchas solares, fonte: final report of Eurados WG5.

Quando uma partícula carregada se movimenta ao longo do campo magnético (i.e. a velocidade não tem a direcção do campo), este provoca um desvio na trajectória da partícula afastando-a da órbita terrestre, sendo este desvio tanto mais intenso quanto menor for a rigidez magnética da partícula. A rigidez magnética é uma grandeza que indica o poder de penetração de uma partícula. Para cada ponto da atmosfera terrestre existe um valor limite de rigidez magnética, abaixo do qual partículas incidentes não conseguem penetrar na atmosfera.

Nos pólos, este valor é mínimo, pelo que as partículas menos energéticas conseguem penetrar a atmosfera terrestre. Por sua vez, nas regiões equatoriais o limiar de rigidez magnética é máximo e apenas as partículas mais energéticas são capazes de penetrar na atmosfera terrestre.

Apenas a componente mais energética da radiação cósmica galáctica consegue atingir a atmosfera terrestre, mas não sem ter sofrido atenuação por parte do campo magnético solar e terrestre. Ainda assim, a radiação cósmica que alcança a atmosfera vai acabar por colidir com moléculas de azoto e oxigénio, provocando excitações e ionizações⁹. As partículas secundárias que se formam destas reacções (raios γ , electrões, neutrões e muões) constituem o início de uma cascata de partículas que podem também interagir com outros núcleos

⁹ Pojea M, Vukovic B, Varga M, Radolic V, Miklavcic I, Faj D, et al. Relation between galactic and solar cosmic radiation at aviation altitude. Adv Space Res. 2008 Dec;42(12):1913-6.

presentes na atmosfera. Este processo em cascata desenvolve-se até que a energia das partículas seja totalmente dissipada (Figura 3).

Figura 3- Representação do processo em cascata das radiações cósmicas, fonte: <http://fafnir.phyast.pitt.edu/particles/conuni5.html>

Em resumo, os níveis de radiação cósmica na atmosfera terrestre dependem dos seguintes factores:

2. Latitude geográfica: as partículas de radiação cósmica podem estar carregadas electricamente e como tal são deflectidas pelo campo magnético terrestre, razão pela qual as doses de radiação se tornam maiores a latitudes elevadas. Este tipo de escudo é mais efectivo no equador, tornando-se praticamente nulo nos pólos magnéticos onde a radiação menos energética

consegue atingir a atmosfera (a dose de radiação duplica do equador aos pólos magnéticos);

3. Actividade solar: esta actividade varia de forma previsível em ciclos de aproximadamente 11 anos. Uma maior actividade solar leva a níveis de radiação cósmica inferiores devido ao campo magnético solar que deflete a radiação em direcções diferentes da Terra.

4. Emissões de protões solares (ou SPE's – Solar Proton Events): ocasionalmente ejeções massivas de partículas carregadas ocorrem no Sol que levam ao aumento repentino dos níveis de radiação na atmosfera terrestre. Estes eventos são raros (0 a 8 por ciclo solar) mas não são previsíveis e os aumentos de radiação causados não são uniformes.

Efeitos das radiações na biologia

Considerando alguns conceitos básicos biológicos e genéticos, podemos dizer que dentro do núcleo celular encontramos unidades biológicas, os cromossomas, que são constituídos por um condensado de DNA e proteínas. O DNA é uma molécula de elevada massa molecular responsável pelo armazenamento e transmissão da informação genética. Os cromossomas contêm genes, que são as unidades básicas da hereditariedade, que no conjunto definem o genótipo do indivíduo, sendo as suas manifestações o fenótipo.

Também se encontra nas células outro tipo de material genético, o RNA, envolvido na expressão da informação genética do DNA. A radiação pode não provocar a morte da célula, mas sim modificá-la.

Este dano é normalmente reparado, mas se a reparação não for perfeita, o resultado da modificação pode ser transmitida às células que com forte probabilidade certamente evolui para cancro.

À modificação ou alteração brusca dos genes ou de cromossomas, que levam a uma variação hereditária ou a mudança no fenótipo denomina-se mutação, podendo acontecer tanto em células somáticas como germinativas. As mutações podem ocorrer espontaneamente ou podem ser induzidos por exposição a um agente mutagénico.

Dependendo dos seus efeitos no fenótipo as mutações são classificadas em dominantes e recessivas.

Células expostas a vários agentes danosos ao DNA respondem, invariavelmente, com um atraso no ciclo celular. Por exemplo, após a exposição a radiação ionizante, o atraso transitório observado em G1 e G2 para prover tempo para o reparo do dano antes que a célula reinicie a síntese

replicativa de DNA e/ou inicie a mitose. Uma falha no reparo ao dano em DNA pode resultar em propagação de lesões mutagênicas e contribuir para o acúmulo progressivo de mudanças genéticas envolvendo transformações neoplásicas.

As partículas subatômicas que constituem a radiação cósmica viajam a altíssimas velocidades (400 a 800 km/seg.) e têm a capacidade de atravessar matéria, incluindo o corpo humano, podendo assim causar a ionização de moléculas biológicas tais como o DNA e tendo importantes implicações biológicas.

Através desta interacção e ao remover pelo menos um electrão a um átomo ou molécula, dá origem a macromoléculas modificadas e a espécies radicalares. Para além de danos directos, a formação destes radicais, conjugada com a presença de outros componentes celulares pode desencadear uma quantidade de reacções potencialmente destrutivas. Entre estas é especialmente importante realçar as espécies reactivas de oxigénio^{10,11}. Estas ROS têm sido implicadas em diferentes vias metabólicas e processos fisiológicos^{12,13}. Elas podem dividir-se de acordo com o seu tipo, radicalares (superóxido, hidroxilo, peróxido, alcóxido e hidroperoxido) ou não radicalares (peróxido de hidrogénio, ozono, oxigénio singleto, peroxinitrito e ácido hipoclorico). Estas espécies, em concentrações elevadas, podem provocar alterações ao normal funcionamento celular, por exemplo, através de oxidação de lípidos, redução de glícidos e aminoácidos ou provocando um grande número de alterações em purinas e pirimidinas¹⁴. A reacção com proteínas pode levar à sua hidrólise, “cross-link” ou perda de função catalítica/estrutural. Estas proteínas podem ou não ser reconhecidas pelo sistema de degradação celular. Caso não sejam reconhecidas, estas proteínas alteradas vão acumular-se e com o tempo vão

¹⁰ Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem-Biol Interact.* 2006 Mar;160(1):1-40.

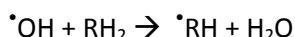
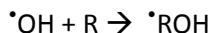
¹¹ Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British journal of pharmacology.* 2004 May;142(2):231-55.

¹² Nistala R, Whaley-Connell A, Sowers JR. Redox control of renal function and hypertension. *Antioxid Redox Signal.* 2008 Dec;10(12):2047-89

¹³ Nie G, Lu Z, Soe-Lin S, Zhao B, Ponka P. Overexpression of mitochondrial ferritin sensitizes cultured cells to oxidative stress via an iron-mediated mechanism. *Am J Hematol.* 2007 Jun;82(6):545-.

¹⁴ Collins AR. Oxidative DNA damage, antioxidants, and cancer. *Bioessays.* 1999 Mar;21(3):238-46.

tornar-se causadoras de perturbações a nível celular e dos organismos. O radical hidroxilo, por exemplo, pode ser muito tóxico causando danos em muitas moléculas como o DNA, proteínas e lípidos de membrana. O radical hidroxilo reage próximo do limite de difusão (ou seja, com constantes de velocidade superiores a $10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) gerando tanto hidroxilação com remoção de átomos de hidrogénio:



Ainda que seja bastante complicado distinguir entre efeitos directos e indirectos da radiação ionizante, vários alvos biológicos podem ser identificados em função do tipo de partícula e da energia (LET - *Linear Energy Transfer*) em causa¹⁵. Considera-se que o alvo substancial das lesões provocadas pela radiação seja a estrutura do DNA podendo ser directamente alterada ou lesada por uma partícula ionizante de passagem. Para além dos alvos clássicos (fibras de cromatina, nucleossomas e dupla hélice de DNA) que causam quebra em cadeias simples (SSB) ou mesmo da dupla hélice (DSB), e formação de ligações covalentes anormais entre macromoléculas (os já referidos “cross-links” entre duas moléculas de DNA ou moléculas de DNA e proteínas) devemos ter em atenção o efeito nos mecanismos de defesa celular^{16, 17}.

A capacidade da célula para reparar os efeitos da ionização depende em parte do número de eventos que ocorram na célula a partir da passagem de uma única partícula, ou da sua concentração nestas passagens. No caso das células de mamíferos, os danos induzidos directamente ou indirectamente, pela radiação ionizante são prevenidos/reparados com base numa complexa rede de defesa celular^{17,18,19}. Desta rede fazem parte enzimas que degradam ROS

¹⁵ Health Risks From Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation: BEIR VII: National Academy Press.

¹⁶ Spitz DR, Azzam EI, Li JJ, Gius D. Metabolic oxidation/reduction reactions and cellular responses to ionizing radiation: A unifying concept in stress response biology. *Cancer Metastasis Rev.* 2004 Aug-Dec;23(3-4):311-22.

¹⁷ Belli M, Sapora O, Tabocchini MA. Molecular targets in cellular response to ionizing radiation and implications in space radiation protection. *Journal of radiation research.* 2002 Dec;43 Suppl:S13-9.

¹⁸ Imlay JA. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Annu Rev Biochem.* 2008;77:755-76

¹⁹ Wood RD, Mitchell M, Sgouros J, Lindahl T. Human DNA repair genes. *Science.* 2001 Feb;291(5507):1284-+.

(por exemplo catalases e reductases do superóxido) e enzimas de reparação de danos no DNA. Neste último caso a reparação por excisão das bases danificadas é um dos principais sistemas de reparação envolvido na reparação de bases danificadas. O reconhecimento de pequenas lesões subtis é efectuado através de um processo que envolve várias reacções sequenciais catalisadas por diferentes enzimas. O primeiro passo desta via é catalisado pelas glicosilases do DNA que reconhecem a base modificada ou mal emparelhada e a removem da dupla hélice produzindo um sítio apurínico-apirimídico (AP). A subsequente acção de endonucleases AP, polimerases e ligases repara o nucleótido. O nucleótido excisado não é, em alguns casos, metabolizado pelo que a quantificação do composto excretado pode dar uma noção do nível de danos/reparações efectuadas.

A divisão celular é um dos processos mais importantes na Biologia Celular. Como tal, desde que foi concebida a ideia de que todos os organismos são constituídos por células e que todas essas células derivam de células já existentes (“*Omnis cellula e cellula*”, Rudolf Virchow), diversos estudos têm vindo a ser realizados no sentido de compreender o mecanismo de divisão celular. Walter Flemming foi, em 1879, o primeiro a descrever a divisão celular. Flemming referiu que as células que se encontravam num estado estacionário seguiam uma sequência de modificações que as conduziam a uma nova divisão e consequente formação de novas células. Este processo foi chamado de mitose.

O ciclo de divisão celular é considerado, hoje em dia, como o conjunto de acontecimentos que surgem numa célula desde a sua formação até à sua divisão e consequente formação de novas células. Neste sentido, uma célula mãe dá origem a duas novas células em cada ciclo celular. Estas novas células são geneticamente idênticas à célula que lhes deu origem, sendo que cada uma pode passar por um processo de crescimento diferente e até mesmo diferenciar-se. Como tal, o ciclo de divisão celular pode ser definido genericamente como um processo pelo qual um oócito fertilizado pode desenvolver-se e dar origem a um organismo multicelular complexo, mantido através de uma contínua renovação celular.

Assim, o ciclo de divisão celular é um processo altamente regulado e ordenado. No caso das células eucarióticas, o ciclo celular pode ser dividido em duas grandes partes: uma fase longa denominada de interfase, correspondente ao período compreendido entre as duas divisões celulares, no qual a célula cresce e sintetiza todos os componentes celulares necessários. A segunda fase, fase curta, denominada de mitose, corresponde à fase do ciclo onde ocorre a divisão celular. Após a divisão nuclear, a formação das duas células filhas ocorre através da divisão do citoplasma, num processo denominado de citocinese.

Durante a interfase, a grande maioria das células é morfologicamente semelhante devido à dispersão da cromatina dentro núcleo, fazendo com que os cromossomas não se distingam. Apesar de não se verificarem diferenças morfológicas significativas, a interfase pode ser dividida em diferentes fases, cada uma delas com um conjunto de processos bioquímicos distintos que as preparam para a fase seguinte. Na fase G1 (Gap 1) a célula desempenha as suas actividades metabólicas pré-definidas, bem como comunica com o exterior como resultado dos estímulos recebidos através de factores de crescimento e do contacto intra celular. Dependendo dos estímulos recebidos, as células têm três alternativas, a saber: 1) Abandonar o ciclo celular e entrar num estado latente, não proliferativo, G0; 2) entrar num processo de diferenciação e expressar factores específicos dos vários tecidos; 3) regressar ao ciclo celular e voltar a dividir-se e a dar origem a novas células.

As células que se encontram em G0 podem reentrar no ciclo celular a qualquer momento, mesmo depois de um longo período de tempo, bastando para isso recuarem até à fase G1. No caso das células que se encontram na fase G1, as últimas etapas estão relacionadas com a preparação para a fase seguinte, ou seja, replicação de DNA. Este processo de preparação inclui normalmente um crescimento significativo da célula através do aumento da quantidade de citoplasma bem como de outros organelos celulares tais como, mitocondrios, membrana, retículo endoplasmático, ribossomas e também algumas proteínas directamente ligadas com os mecanismos de síntese de DNA.

Durante a fase S (Syntesis), as células produzem uma cópia exacta do seu DNA genómico de forma a que no próximo ciclo de divisão cada cromossoma seja composto por dois cromatídeos exactamente iguais. Durante esta fase, as células também duplicam os centríolos, contudo, estes permanecem juntos até ao início da mitose. Estas estruturas são especialmente importantes nos animais, onde definem o centro de organização microtubular, MTOC (Microtubular Organizing Center). Terminada a replicação do DNA, as células entram na fase G2, na qual as células continuam a crescer e a prepararem-se para a subsequente divisão nuclear, a mitose, onde todo o seu genoma vai ser dividido em duas partes iguais.

A mitose é um processo dinâmico e contínuo através do qual as células dividem em partes iguais todo o seu material genómico. Globalmente, este processo é subdividido em cinco etapas de acordo com as alterações estruturais que vão ocorrendo, a saber, profase, prometáfase, metáfase, anáfase e telófase.

Desta forma, durante a profase ocorrem alterações morfológicas significativas ao nível da cromatina. As réplicas do DNA começam a condensar-se progressivamente numa estrutura altamente ordenada denominada de

cromossoma. Nesta fase os diferentes cromossomas começam a diferenciar-se uns dos outros. Na profase os cromossomas consistem num par de cromatídeos iguais, acoplados lado a lado, contendo cada um, um cinetocoro.

Nos eucariontes superiores, o final da profase e o concomitante início da prometáfase é determinado pela quebra do envelope nuclear, NEBD (Nuclear Envelope BreakDown). À medida que este fenómeno ocorre, os microtúbulos provenientes dos centróssomas opostos começam a sobrepor-se na região equatorial da célula, dando origem aos microtúbulos interpolares, essenciais à estabilização da configuração bipolar do fuso mitótico. Simultaneamente ocorre o rompimento da membrana que separa fisicamente o núcleo do citoplasma, permitindo o contacto dos cromossomas com os microtúbulos do fuso mitótico.

Assim, os cromossomas vão ligar-se ao fuso microtubular, de uma forma relativamente aleatória, permitindo aos microtúbulos explorar o espaço citoplasmático e encontrar um cinetocoro. Os microtúbulos que se acoplarem a um cinetocoro passam a ser denominados por microtúbulos cinetocorais e são responsáveis pela movimentação dos cromossomas para a sua posição de equilíbrio entre os polos. A esta etapa dá-se o nome de metafase.

A partir do momento em que cada cinetocoro está acoplado à fibra cinetocoral e cada cromossoma está correctamente alinhado com a placa metafásica, a célula pode prosseguir para as etapas finais da segregação cromossomática, onde cada dupla de cromatídeos é dividida, seguindo cada uma para um pólo num processo denominado de anafase.

Durante a telofase, cada conjunto de cromatídeos distende-se enquanto uma nova membrana nuclear se forma, dando origem a dois novos núcleos. A citocinese, ou divisão do citoplasma, ocorre concomitantemente com as últimas etapas da divisão nuclear. Nas células animais ocorre a formação de um anel de actina e miosina até a separação das duas células se concretizar. De forma a assegurar uma correcta replicação do genoma, a célula necessita de garantir que os consecutivos ciclos celulares ocorrem unidirecionalmente e que em cada um dos ciclos o genoma é integralmente replicado durante a mitose. Para tal, a célula possui um conjunto de mecanismos de controlo baseados em sinais químicos/bioquímicos, que garantem que uma determinada quantidade de eventos seguem uma ordem certa.

Os principais responsáveis por este sistema são as cinases dependentes da ciclina, Cdk (Cycline-Dependent Kinases), bem como os seus reguladores.

Estes participam numa complexa rede de mecanismos que em conjunto regulam todas as etapas do ciclo celular. Os eucariotas superiores possuem um grande conjunto de Cdk homologos, contudo, os Cdk 1 e 2 aparentam ser os principais reguladores. Desta forma, a regulação dependente dos Cdk é

estimulada através das oscilações dos níveis de ciclina. Estas sub-unidades ligam-se aos Cdk, estimulando a sua actividade catalítica.

Durante o ciclo celular são produzidos diferentes tipos de ciclinas (por exemplo, ciclinas E e D são mais abundantes durante a interfase enquanto que as ciclinas A e B são mais abundantes durante a mitose), dando origem a diferentes complexos de Cdk-ciclina. Para além deste processo também a fosforilação dos Cdk, através do enzima activador de Cdk, CAK (Cdk Activating Enzyme), contribui para a regulação positiva da actividade catalítica dos Cdk. A regulação negativa dos Cdk é obtida pela proteína inibidora dos Cdk, CKI (Cdk Inhibitor Protein), ou em alternativa, pela fosforilação de resíduos específicos.

Desta forma, os diferentes complexos Cdk-ciclina, formados/activados em diferentes etapas do ciclo celular, são responsáveis pelas alterações químicas/bioquímicas ocorridas ao nível dos vários mecanismos celulares da divisão celular.

A evolução do ciclo celular é também controlada pela ubiquitina. Neste mecanismo, alguns reguladores do ciclo celular são proteolísados num processo dependente da ubiquitina, servindo esta como marcador de proteólise para complexos como o 26S proteossoma. Este mecanismo envolve uma série de outras enzimas, tais como, E1, E2 e E3, fundamentais para o processo de ubiquitinação. É também importante referir que estes processos estão também interligados com a regulação dos Cdk, na medida em que parte dos elementos degradados são seus substratos, como por exemplo as ciclinas.

Para além dos mecanismos já descritos, o ciclo celular é também controlado através de um balanço de componentes celulares entre o interior e o exterior do núcleo. Assim, determinadas proteínas podem ser mantidas no citoplasma até serem efectivamente necessárias no núcleo. Nas células animais, proteínas como a Cdk1-Ciclina B1 estão constantemente a permutar entre o núcleo e o citoplasma.

Apesar de serem uma sequência unidireccional de eventos, a correcta progressão do ciclo celular implica também que uma etapa não se inicie antes da anterior terminar. Para tal, um conjunto de controlos formado por sinais químicos e bioquímicos é utilizado. Caso algum erro seja detectado nesses controlos, o processo é atrasado ou até mesmo parado.

Os pontos de detecção de danos no DNA detectam lesões ao nível do DNA (quebras de cadeia simples, ssDNA, ou cadeia dupla, DSB, Doublestrand Breaks), impedem a progressão do ciclo celular e accionam os mecanismos de reparação do DNA. Estas lesões actuam como sinais para a activação de algumas cinases, ATM e ATR. Desta forma, os danos detectados ao nível do DNA activam as cinases ATM/ATR, dependendo da etapa do ciclo celular em

que a célula se encontra, bloqueando consequentemente os seus alvos, maioritariamente cinases.

Para além da detecção de danos no DNA, também existem controlos dedicados à monitorização da replicação do DNA. Neste caso, estes mecanismos têm como função assegurar a correcta replicação, durante a fase S, atrasando esse processo de cada vez que um desemparelhamento é detectado. Deste mecanismo de protecção resulta a paragem dos garfos de replicação, por acção da cinase do ATR.

Finalmente, o último processo de verificação está associado à estabilização do fuso cromático. Neste caso, este mecanismo assegura que o início da anafase acontece quando todos os cromossomas estão devidamente alinhados na placa metafásica. A presença de cinetocoros não ligados é suficiente para fazer activar os mecanismos associados a este controlo, emitindo um sinal de “espera” para a anafase, prevenindo a terminação de todo o processo de mitose.

É também importante mencionar os *checkpoints* do ciclo de divisão celular^{20, 21}. Danos no DNA, como os acima descritos, activam também os *checkpoints* (i.e. pontos de controlo) celulares. A divisão de uma célula eucariótica é um processo complexo e altamente regulado, processando-se em várias fases (Figura 4). O processo de divisão celular inicia-se com a fase G1 onde existe uma síntese muito elevada de RNA, proteínas e enzimas, bem como a formação de organelos celulares. Como consequência a célula aumenta de tamanho. No final desta fase existe um primeiro *checkpoint* que implica um mecanismo de decisão: a célula divide-se, adia a divisão ou entra em repouso (fase G0).

Algumas células, como os neurónios, podem permanecer neste estado até à morte celular.

Este mecanismo permite à célula verificar se está pronta para a fase seguinte, fase S, onde vai ocorrer a síntese e replicação do DNA.

Durante a fase S podem ocorrer danos do DNA que são reparados através de mecanismos apropriados. A incapacidade de reparação para o ciclo celular, pode levar à apoptose.

²⁰ Ballarini F, Ottolenghi A. A model of chromosome aberration induction: applications to space research. Radiation research. 2005 Oct;164(4 Pt 2):567-70.

²¹ Chang D, Chen F, Zhang FF, McKay BC, Ljungman M. Dose-dependent effects of DNA-damaging agents on p53-mediated cell cycle arrest. Cell Growth Differ. 1999 Mar;10(3):155-62.

Após a fase S, a célula entra na fase G2 onde a célula continua a aumentar de tamanho, preparando-se para a mitose.

Existe aqui um novo *checkpoint* no qual a verificação de diversos factores assegura que a célula pode efectuar a mitose com sucesso. Ao conjunto de fases descritas até este momento dá-se o nome de interfase.

Na fase mitótica (fase M) existe ainda um novo *checkpoint* responsável pela verificação da ligação do fuso cromático com os cromossomas. Os efeitos da exposição à radiação ionizante podem ser vários, dependendo dos alvos.

A inactivação de enzimas reparadoras pode levar à apoptose ou a distúrbios e aberrações ao nível do DNA²². A taxa mutagénica ao nível do DNA pode também ser elevada por modo aos mecanismos de reparação/controlo não serem eficazes.

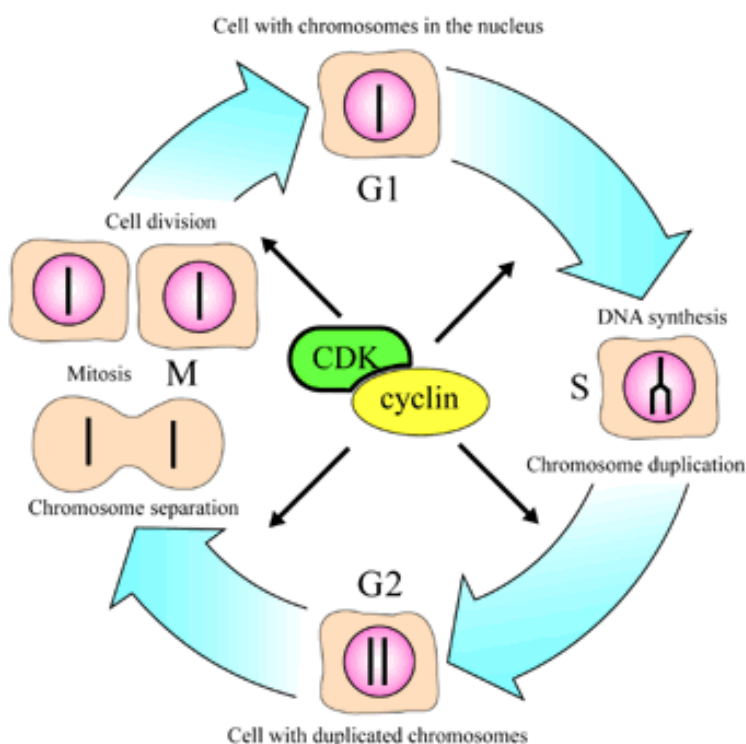


Figura 4 - Esquema das diferentes fases do ciclo celular, fonte:
http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2001/press.html

²² Bolzan AD, Bianchi MS, Gimenez EM, Flaquer MCD, Ciancio VR. Analysis of spontaneous and bleomycin-induced chromosome damage in peripheral lymphocytes of long-haul aircrew members from Argentina. Mutat Res-Fundam Mol Mech Mutagen. 2008 Mar;639(1-2):64-79.

Efeitos das radiações cósmicas nos pilotos de linha aérea

Estado da arte

A população humana está exposta a diferentes tipos de radiação ionizante, sendo que esta é proveniente, essencialmente de duas fontes: cósmica e terrestre. A radiação cósmica corresponde, em média, a apenas 13% da exposição total. Num país industrializado, por exemplo, a quantidade de radiação ionizante recebida anualmente proveniente das radiações cósmicas é, em média, menos de metade da proveniente de procedimentos clínicos²³. Contudo, uma vez que a exposição às radiações cósmicas é dependente da altitude, as tripulações dos aviões estão expostas a uma quantidade superior de radiação comparativamente com as populações ao nível do mar. Esta exposição vai contudo variar com a altitude, latitude e duração de cada voo.

Para a avaliação não só da exposição às radiações como dos danos para a saúde por ela causados é utilizada uma unidade, o sievert (Sv). Esta unidade, usada internacionalmente, é uma medida dos danos biológicos potencialmente causados pela radiação ionizante. Um sievert é igual a 1 Gray (Gy) de radiação de raios-X que, por sua vez, é equivalente à absorção de uma dose de 1 Joule (J) por kilograma (Kg) de tecido. A dosagem residual média anual em todo o mundo é de cerca de 3.5 mSv. Estudos apresentados pela autoridade americana de aviação (Federal Aviation Administration, FAA) demonstram que um piloto de linha aérea norte-americano está exposto a doses de radiação que vão desde os 3 aos 5 mSv, anualmente. Os dados existentes na literatura raramente apresentam doses anuais superiores a 6 mSv para tripulações de aviões. Estes valores estão bastante abaixo dos recomendados, 20 mSv por ano (numa média de 5 anos), pela comissão internacional de protecção radiológica (International Commission on Radiological Protection, ICRP) para adultos (excepto grávidas). É de realçar que devem ser tomadas precauções excepcionais no caso de fetos, onde a dosagem não deve ser superior a 1 mSv desde que se toma conhecimento da gravidez^{24, 25, 26}.

²³ Biological Effects of Radiation. United States Nuclear Regulatory Commission. 2003;Office of Public Affairs.

²⁴ Nicholas JS, Butler GC, Davis S, Bryant E, Hoel DG, Mohr LC, Jr. Stable chromosome aberrations and ionizing radiation in airline pilots. *Aviation, space, and environmental medicine*. 2003 Sep;74(9):953-6.

Actualmente o cálculo das dosagens das tripulações de aviões é feito com o auxílio de programas de computador que tomam em consideração valores experimentais conhecidos e os dados de cada voo.

Existem diversos programas disponíveis como:

- EPCARD-(<http://www.helmholtz-muenchen.de/en/epcard-portal/epcard-home/index.html>);
- CARI (<http://jag.cami.jccbi.gov/cariprofile.asp>);
- PC-AIRE (<http://www.pcaire.com/>);
- SIEVERT

(<http://www.sievertsystem.org/WebMasters/en/evaluation.html>)^{27, 28}.

Estes programas foram desenvolvidos tendo por base vários factores, tais como:

- Data e hora do voo (partida e chegada);
- Coordenadas geográficas dos aeroportos de origem e de destino do voo em causa;
- Latitude, longitude da rota efectuada;
- Altitudes atingidas durante o voo (patamares de voo);
- O potencial heliocêntrico estimado, tendo em conta a monitorização de neutrões que é um parâmetro de modulação da actividade solar²⁹.

O desenvolvimento de modelos de computador capazes de prever as doses recebidas por tripulações a bordo de aviões comerciais iniciou-se nos anos 80.

²⁵ Bottollier-Depois JF, Chau Q, Bouisset P, Kerlau G, Plawinski L, Lebaron-Jacobs L. Assessing exposure to cosmic radiation on board aircraft. *Adv Space Res.* 2003;32(1):59-66

²⁶ Couvades' JM. The Objectives of the Directive on Radiation Protection for Patients. *Radiation protection dosimetry.* 1992;43(1-4):7-10.

²⁷ Bottollier-Depois JF, Blanchard P, Clairand I, Dessarps P, Fuller N, Lantos P, et al. An operational approach for aircraft crew dosimetry: the SIEVERT system. *Radiation protection dosimetry.* 2007;125(1-4):421-4.

²⁸ Bottollier-Depois JF, Blanchard P, Clairand I, Dessarps P, Fuller N, Lantos P, et al. An operational approach for aircraft crew dosimetry: the SIEVERT system. *Radiation protection dosimetry.* 2007;125(1-4):421-4.

²⁹ Lantos P. Predictions of galactic cosmic ray intensity deduced from that of sunspot number. *Sol Phys.* 2005 Jul;229(2):373-86.

No início dos anos 90 alguns modelos começaram a ser rotineiramente utilizados. Desde então, foram efectuadas diversas aproximações ao cálculo dos fluxos de radiação, em transporte aéreo, necessários à determinação do campo de radiação como função da altitude (LUIN, FLUKA, GEANT, LAHET, MCNPX e MARS). Este código é agora integrado pelos programas de cálculo de dose, de base matemática, apoiando-se nas bases de dados estatísticos existentes, como por exemplo:

- CARI (que calcula equações de transporte do campo de radiação cósmica com base em soluções analíticas com procedimentos LUIN);
- EPCARD (que utiliza cálculos FLUKA MC para estimar os campos de radiação em todas as condições solares e geomagnéticas);
- FREE (FREEv1.0 foi originalmente concebido com base nos dados LUIN e recentemente melhorado com código PLOTINUS que tem em consideração variações da modulação solar, a curto prazo);
- PC-AIRE (que utiliza ajustes a dados experimentais, sendo portanto um modelo híbrido);
- SIEVERT (que utiliza dados do CARI, e desde Janeiro de 2004 do EPCARD) e ainda o algoritmo de Pelliccioni (através do código FLUKA).

Considera-se que estes programas são suficientemente rigorosos na estimativa de dose para obviar à instalação, calibração e manutenção de dosímetros a bordo de aviões subsónicos. Historicamente o Concorde, como avião supersónico, foi o único avião equipado com dosímetros que mediam doses recebidas para cada voo, embora com objectivos diversos várias medidas tenham sido efectuadas a bordo de aviões subsónicos^{30, 31}.

O efeito biológico da radiação ionizante depende do facto de ser uma LET baixa ou alta. Já foi sugerido que os efeitos da radiação na saúde humana não são lineares, mas sim uma curva em forma de J, onde é possível inclusivamente notar o benefício da radiação em doses baixas³².

³⁰ Chen J, Lewis BJ, Bennett LG, Green AR, Tracy BL. Estimated neutron dose to embryo and foetus during commercial flight. Radiation protection dosimetry. 2005;114(4):475-80.

³¹ Tveten U, Haldorsen T, Reitan J. Cosmic radiation and airline pilots: Exposure pattern as a function of aircraft type. Radiation protection dosimetry. 2000;87(3):157-65.

³² Bagshaw M. Cosmic radiation in commercial aviation. IFALPA Human Performance Committee Meeting. 2006.

Também é sabido que a todas as altitudes desde os 10.000 pés até aos 80.000 pés (3 a 25 Km), os neutrões são a componente dominante do campo de radiação cósmica. São menos dominantes a baixas altitudes, mas ainda assim contribuem entre 40 e 65% para a quantidade total equivalente. Uma vez que as interacções dos neutrões produzem iões massivos de baixa energia, a radiação dos neutrões é mais eficaz a induzir danos biológicos do que a radiação gama. Contudo, não há uma informação epidemiológica adequada para avaliar se os neutrões são carcinogénicos para o homem.

Os tecidos podem ser danificados por agentes físicos, como o calor, o frio, as vibrações e as radiações, entre outros. Durante a vida há um contínuo avanço no ciclo de danos e reparação das células, utilizando o mecanismo de auto-regulação do organismo, podendo ocorrer a mudança de posição dos genes e outros desvios de cromossomas.

Sabe-se que não há nível de radiação abaixo do qual nenhum efeito ocorra.

Pode-se, isso sim, estimar a probabilidade da ocorrência de algum dano biológico, baseando-nos na dose de exposição. É também importante perceber que o conceito de diluição (por exemplo de um agente tóxico) não se aplica na exposição a radiações ionizantes pois mesmo níveis baixos de exposição podem produzir efeitos nocivos no imediato ou em futuras gerações celulares³³. Na verdade podemos estar na presença de um efeito estocástico, i.e. o efeito (dano) é independente da dose e pode ser função de modificações químicas ao nível molecular numa única célula.

Para se abordar a radioprotecção tem de se ter em conta duas medidas que são essenciais – a dose de radiação absorvida pelo corpo e a avaliação do risco associado a esta dose absorvida.

Para exprimir numa mesma unidade o risco da ocorrência dos efeitos estocásticos associados ao conjunto de situações de exposições possíveis, desenvolve-se o indicador “dose efectiva” em que a unidade de medida é o sievert.

A dose efectiva é calculada a partir da dose absorvida (expressa em gray) pelos diferentes tecidos e órgãos, aplicando-se um factor de ponderação, tendo em conta o tipo de radiação (alfa, beta, gama, X e neutrões) o tipo de exposição e a sensibilidade dos órgãos ou tecidos.

Por definição, a dose efectiva expressa em Sv só pode ser usada para avaliar o risco de aparecimento dos efeitos estocásticos no homem e não pode ser

³³ Stone R. Epidemiology - Russian cancer study adds to the indictment of low-dose radiation. Science. 2005 Nov;310(5750):959.

empregue para a determinação de efeitos agudos nem para os efeitos sobre a fauna e a flora, (<http://www.sievertsystem.org/WebMasters/en/questions.html>).

As radiações UV do sol são absorvidas pelas timinas do DNA, promovendo o estabelecimento de ligações covalentes entre bases adjacentes, o que causa grandes problemas durante a replicação do DNA.

As características das mutações induzidas pelas radiações cósmicas são parecidas com as características das mutações que ocorrem naturalmente, mas, a proporção das diferentes características não é a mesma.

Alguns resultados de estudos experimentais feitos em mamíferos apontam para que a maioria das mutações induzidas por radiações tanto em células germinativas como somáticas envolve largos segmentos do DNA³⁴.

Em Junho de 1960 a ILO adopta a convenção de protecção à radiação que contém propostas concretas sobre a protecção de trabalhadores contra os efeitos de radiações ionizantes. Nesta convenção diz-se que todos os trabalhadores que estejam directamente envolvidos em trabalhos que levem a exposição a radiações ionizantes devem ser sujeitos a exames médicos antes e pouco tempo depois de começarem a efectuar esse trabalho. Devem ainda ser efectuados exames médicos a intervalos julgados apropriados.

Em 1990, o ICRP pretendia que exposições a radiações cósmicas durante o voo deveriam ser incluídas como exposição ocupacional das tripulações, recomendava como limite máximo de dose efectiva de 20 mSv por ano (numa média de 5 anos, com uma máximo em cada ano de 50 mSv).

Em 13 de Maio de 1996 a UE com a Directiva nº 96/29/EUROTOM, do Conselho fixa as normas de segurança de base relativas à protecção sanitária da população e dos trabalhadores contra os perigos resultantes das radiações ionizantes.

Esta directiva foi parcialmente transposta para a legislação nacional pelos Decretos-Leis n.os 165/2002, de 17 de Julho, 167/2002, de 18 de Julho, 174/2002, de 25 de Julho, e 140/2005, de 17 de Agosto.

A Directiva nº 96//29/EUROTOM, do Conselho, de 13 de Maio, prevê ainda o estabelecimento de limites de dose para membros do público e para os trabalhadores profissionalmente expostos, aprendizes e membros do público bem como outras considerações de igual importância relativamente à

³⁴ Shimada A, Shima A, Nojima K, Seino Y, Setlow RB. Germ cell mutagenesis in medaka fish after exposures to high-energy cosmic ray nuclei: A human model. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2005 Apr 26;102(17):6063-7.

protecção e segurança contra os perigos resultantes da utilização das radiações ionizantes.

O Decreto-lei nº 222/2008, de 17 de Novembro, transpõe para ordenamento jurídico interno os limites de dose previstos na Directiva nº 96/29/EUROTOM, do Conselho, de 13 de Maio, e aplica-se à exposição dos membros do público às radiações ionizantes de origem artificial, bem como aos trabalhadores profissionalmente expostos e aprendizes, sendo estabelecidos uma série de critérios específicos para a protecção dos mesmos.

O objectivo e âmbito deste decreto-lei no seu artigo 1º diz que este é aplicável a todas as praticas que impliquem risco resultante das radiações emitidas por uma fonte artificial ou uma fonte natural de radiação, no caso dos radionuclidos naturais serem ou terem sido tratados em função das suas propriedades radioactivas, cindíveis ou férteis.

Fazendo referencia à classificação dos trabalhadores no seu artigo 9º ponto 1 alínea a), são classificados de categoria A aqueles trabalhadores expostos que são susceptíveis de receber uma dose efectiva superior a 6 mSv por ano, ou uma dose equivalente superior a três décimas de um dos limites anuais previstos no artigo 4º, para o cristalino, para a pele ou para as extremidades

Quanto à monitorização dos locais de trabalho no seu artigo 12º ponto 1 diz que para efeitos da protecção contra radiações, devem ser tomadas medidas relativamente a todos os locais de trabalho onde a exposição a radiações ionizantes resulte na possibilidade de os trabalhadores receberem uma dose efectiva superior a 1 mSv por ano, ou uma dose equivalente superior a uma décima dos limites de dose para o cristalino, para a pele e para as extremidades, estabelecidos no artigo 4.

Já no artigo 15º deste decreto-lei referente a exposição ocupacional a fontes de radiação natural, no seu ponto 1 diz que sempre que a realização de trabalhos implique uma exposição a fontes de radiação natural da qual possa resultar uma dose efectiva anual superior a 1 mSv para os trabalhadores, estes devem ser considerados trabalhadores expostos, aplicando-se todos os respectivos requisitos de vigilância, monitorização e protecção radiológica referidos no presente decreto-lei e demais legislação aplicável.

No artigo 16º do mesmo decreto-lei e o que mais nos interessa, protecção das tripulações de voo e passageiros frequentes relativamente à exposição a radiações cósmicas, faz referencia no seu ponto 2 de que os resultados da avaliação devem ser considerados no escalonamento de serviços, que deve procurar manter as exposições dos tripulantes abaixo dos limites anuais para membros do público.

Então o que diz o artigo 4º a que nos vimos referindo, transcrevendo:

Limites de dose para os trabalhadores expostos

1 - O limite de dose efectiva para os trabalhadores expostos é fixado em 100 mSv por um período de cinco anos consecutivos, na condição de esse valor não ultrapassar uma dose efectiva máxima de 50 mSv em cada ano.

2 - Sem prejuízo do limite disposto no número anterior, são ainda fixados os seguintes:

- a) O limite de dose equivalente para o cristalino é fixado em 150 mSv por ano;
- b) O limite de dose equivalente para a pele é fixado em 500 mSv por ano;
- c) O limite de dose equivalente para as extremidades é fixado em 150 mSv por ano.

3 - O limite a que se refere a alínea b) do número anterior aplica-se à dose média numa superfície de 1 cm², independentemente da área exposta.

A título de nota informativa o limite do ICRP para o público em geral é de 1 mSv ano, (20 mSv por ano para exposição ocupacional, e o limite do 1 mSv para o feto durante o período de gravidez). Esta directiva europeia apresentava ainda como indicativo que a exposição ocupacional por parte da grávida deva ser tão baixa quanto razoavelmente possível.

São coincidentes as indicações da União Europeia e a FAA, que aplicam como limites para a exposição ocupacional e para uma média de 5 anos, a quantidade efectiva de 20 mSv/ano e nunca mais de 50 mSv num só ano. Os valores limites para exposição encontram-se sumariados na tabela 2³⁵.

Tabela 2-Limites máximos para o valor médio de dose efectiva

	ICRP	EU	FAA
População geral	1 mSv/ano		
Ocupacionalmente e expostos	20 mSv/ano Valor médio de 5 anos, mas limitado a um máximo anual de 50 mSv		
Dose equivalente para feto	1 mS/ano	1 mSv para gravidez declarada, ALARA	Máximo de 1 mSv, limite mensal de 0,5 mSv
Nível de controlo	6 mSv		

³⁵ Bagshaw M. Cosmic radiation in commercial aviation. . IFALPA Human Performance Committee Meeting. 2006.

Também, e no sentido de proteger as tripulações dos aviões da exposição ocupacional aos raios cósmicos, a União Europeia adoptou uma medida em 1996, na qual se fazia referência para a necessidade de estas estarem informadas da quantidade de radiações recebidas, bem como, dos respectivos riscos para a saúde.

Em Portugal a autoridade responsável pela protecção radiológica é o Instituto Tecnológico e Nuclear (<http://www.itn.pt/>), Departamento de Protecção Radiológica e Segurança Nuclear (DPRSN).

Alguns estudos epidemiológicos consultados não revelam qualquer aumento na mortalidade devido a cancro ou na incidência de doença que pudesse ser directamente atribuída à exposição a radiações cósmicas.

Aceitando que não existe nenhum nível de exposição à radiação sobre o qual não ocorrem efeitos, as evidências actuais pretendem apontar para a possibilidade de desenvolver qualquer deficiência ou doenças como resultado de exposição à radiação, quer das tripulações, quer dos passageiros frequentes é muito baixa.

As principais questões de saúde colocadas devido à exposição dos pilotos de linha aérea às radiações cósmicas estão relacionadas com o aumento da predisposição para o cancro, mutações genéticas que possam ser transmitidas para próximas gerações e possíveis malformações em fetos^{36,37}. A morte por cancro é a maior preocupação da exposição ocupacional às radiações cósmicas, ou seja, pensa-se que os danos provocados ao nível do DNA na célula podem ser responsáveis pelo aumento do risco de cancro³⁸.

O risco demonstrado por esta população relativamente ao facto de poderem sofrer de cancro devido à exposição a radiações cósmicas durante a sua carreira profissional, é ligeiramente superior à da população em geral, tal como no que diz respeito aos danos causados no material genético e em fetos.

³⁶ Hellweg CE, Baumstark-Khan C. Getting ready for the manned mission to Mars: the astronauts' risk from space radiation. *Die Naturwissenschaften*. 2007 Jul;94(7):517-26

³⁷ McCollough CH, Schueler BA, Atwell TD, Braun NN, Regner DM, Brown DL, et al. Radiation exposure and pregnancy: when should we be concerned? *Radiographics*. 2007 Jul-Aug;27(4):909-17; discussion 17-8.

³⁸ Molla M, Panes J. Radiation-induced intestinal inflammation. *World J Gastroenterol*. 2007 Jun;13(22):3043-6 e Pukkala E, Aspholm R, Auvinen A, Eliasch H, Gundestrup M, Haldorsen T, et al. Incidence of cancer among Nordic airline pilots over five decades: occupational cohort study. *BMJ (Clinical research ed)*. 2002 Sep 14;325(7364):567.

Existem neste momento poucos estudos realizados relativamente ao efeito da exposição a radiações cósmicas em pilotos de linha aérea. De uma maneira geral estes estudos apontam para a incidência de algumas formas de cancro, contudo, os resultados finais estão longe de ser atingidos^{39,40}.

Ainda, e apesar de não ser possível excluir a possibilidade de a exposição às radiações cósmicas durante toda a carreira de piloto poder ser prejudicial, não é também possível indicá-la como única fonte de aparecimento de alterações de saúde ou doenças. As radiações cósmicas não são mais do que mais uma forma de stress que afecta os pilotos de linha aérea.

A longo prazo, um piloto de linha aérea por estar sujeito a algumas exigências físicas tais como alterações do ritmo circadiano, campos magnéticos e radiações cósmicas manifestará as suas consequências⁴¹. A exposição ocupacional às radiações cósmicas, em particular, tem merecido especial atenção devido à sua potencial relação com o aparecimento de cancro^{42,43,44,45,46}.

Dada a complexidade do ambiente que rodeia um piloto de linha aérea, bem como o facto de mais do que um dos factores mencionados poder actuar em

³⁹ Langner I, Blettner M, Gundestrup M, Storm H, Aspholm R, Auvinen A, et al. Cosmic radiation and cancer mortality among airline pilots: results from a European cohort study (ESCAPE). *Radiation and environmental biophysics*. 2004 Feb;42(4):247-56.

⁴⁰ Walsh L. A short review of model selection techniques for radiation epidemiology. *Radiation and environmental biophysics*. 2007 Aug;46(3):205-13.

⁴¹ Alves-Pereira M, Castelo Branco NA. Vibroacoustic disease: biological effects of infrasound and low-frequency noise explained by mechanotransduction cellular signalling. *Progress in biophysics and molecular biology*. 2007 Jan-Apr;93(1-3):256-79.

⁴² Nicholas JS, Butler GC, Davis S, Bryant E, Hoel DG, Mohr LC, Jr. Stable chromosome aberrations and ionizing radiation in airline pilots. *Aviation, space, and environmental medicine*. 2003 Sep;74(9):953-6.

⁴³ Belli M, Sapora O, Tabocchini MA. Molecular targets in cellular response to ionizing radiation and implications in space radiation protection. *Journal of radiation research*. 2002 Dec;43 Suppl:S13-9.

⁴⁴ Muller K, Meineke V. Radiation-induced alterations in cytokine production by skin cells. *Experimental hematology*. 2007 Apr;35(4 Suppl 1):96-104.

⁴⁵ Kim JN, Lee BM. Risk factors, health risks, and risk management for aircraft personnel and frequent flyers. *Journal of toxicology and environmental health*. 2007 Apr-May;10(3):223-34.

⁴⁶ Rafnsson V, Hrafnkelsson J, Tulinius H. Incidence of cancer among commercial airline pilots. *Occupational and environmental medicine*. 2000 Mar;57(3):175-9.

conjunto de forma a causar mais danos do que cada um individualmente, torna-se importante direccionar a investigação actual em torno da exposição às radiações cósmicas e aos campos magnéticos. Porém, o próprio estudo da exposição de pilotos de linha aérea às radiações cósmicas é por si só um desafio.

II. Planeamento do trabalho

Planeamento do trabalho

A falta de conhecimento científico preciso e conclusivo sobre os efeitos das radiações cósmicas na saúde dos pilotos de linha aérea levou-nos ao planeamento deste estudo com o qual se pretende:

- Aprofundar o conhecimento da exposição ocupacional de pilotos de linha aérea à radiação cósmica e seus efeitos no DNA e proteínas alvo.
- Fazer uma apreciação de vantagens/desvantagens de metodologias aplicáveis para avaliar os resultados da exposição ocupacional de pilotos de linha aérea, procedendo-se a testes das metodologias consideradas promissoras, técnicas inovadoras e recentes.

OBJECTIVOS

Tem este trabalho os seguintes objectivos:

- 1) Perceber que metodologia experimental permite recolher novos dados sobre os efeitos da exposição a radiações cósmicas e como testar essa metodologia.
- 2) Desenhar e realizar um estudo de investigação que desenvolva e teste conjuntos de metodologias para a análise e compreensão desses efeitos.
- 3) Analisar comparativamente as doses de radiação cósmica recebida por uma população exposta (pilotos de linha aérea) e uma população que vive ao nível médio das águas do mar.
- 4) Dentro da população exposta (pilotos) analisar comparativamente em relação à quantidade de radiações cósmicas recebidas dois sub-grupos de acordo com a duração do voo: médio e longo curso ^a.
- 5) Analisar o dano provocado por efeito da exposição a radiações cósmicas em voos seleccionados, num “kit” biológico de elaboração própria composto por DNA, células e proteínas.

^{a)} A definição de voos de médio e longo curso não assenta em bases rigorosas. Não existe legislação nacional ou internacional que faça a diferença entre médio e longo curso, apenas as companhias aéreas é que o fazem, sendo que, por exemplo a TAP faz essa distinção por localização geográfica e não por horas de voo. Faz parte do regulamento de utilização e de prestação de trabalho (RUPT) da TAP/SPAC na clausula 6ª dos pontos 19 e 20, em que considera operações de “narrow body” os serviços de voo efectuados em equipamentos A319/A320/A321 e operações de “wide body” os serviços de voo efectuados em equipamentos A330/A340. As primeiras aeronaves têm uma autonomia/raio de acção até 5700 Kms e as segundas até 12000 Kms.

Procura-se assim efectuar um estudo integrado, do qual se perceba possíveis causas/efeitos da exposição humana à radiação cósmica (como radiação ionizante), metodologias de avaliação da exposição de pilotos de linha aérea, limites de exposição e controle de risco.

III. Material e métodos

Desenho do estudo

Para tal, vai ser estudada uma população constituída por pilotos de linha aérea, membros da “Associação dos Pilotos Portugueses de Linha Aérea - APPLA”. A escolha desta população deve-se ao facto de estar ocupacionalmente exposta à radiação cósmica, sendo depois comparada a uma população equivalente, não exposta.

Então, centramos a investigação num estudo transversal (observacional) com uma comparação de conveniência numa população exposta a radiações cósmicas por motivos laborais, das quais destacamos:

- a) Avaliar a quantidade da exposição à radiação cósmica pelos pilotos de linha aérea, consequência das horas de duração de voo e as rotas seguidas.
- b) Comparação de radiação medida (método directo) no cockpit de aviões comerciais, utilizados regularmente por companhias de linha aérea em rotas pré-seleccionadas, com os valores estimados pelos métodos SIEVERT e CARI-6.
- c) Comparação entre os valores de dose recebida medidos directamente no cockpit de aviões e alterações detectadas por um kit biológico.
- d) Perceber a capacidade de eliminar ROS, impedindo assim possíveis lesões moleculares, e o nível de danos e capacidade de reparação desses mesmos danos.

Para tanto realizaremos um conjunto de testes clínicos cujas escolhas recaíram então na utilização da medição da capacidade antioxidante do sangue por EPR e na quantificação de produtos da oxidação de DNA e proteínas (quantificação de bitirosinas e 8-hidroxi-2'-desoxiguanina).

Paralelamente também se realizaram análises clínicas correntes, a componentes de produtos biológicos recolhidos que possam servir de controlo, tais como, proteínas totais, hemoglobina e ferritina (em amostras de sangue) e creatininúria. Os valores obtidos nestes compostos biológicos podem facilmente servir para normalizar valores obtidos nas restantes análises realizadas. Na globalidade o conjunto dos dados obtidos permite ainda uma análise multiparamétrica, previsivelmente necessária para a extracção de correlações significativas.

Para dar corpo a este trabalho, foram geradas parcerias, sendo estabelecido um protocolo de cooperação com a APPLA e um protocolo de colaboração com o Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, conforme anexos I e II.

Das rotas operadas pela TAP Portugal foram seleccionados 51 voos para

monitorização directa, com o objectivo de uma posterior comparação com os métodos indirectos, SIEVERT e CARI-6.

Vão ser utilizados, no cockpit da aeronave, um detector de radiações, conectado a um computador, com software adequado para o efeito; procedendo-se também ao transporte de um kit biológico, com a finalidade de verificar os efeitos da exposição a radiações cósmicas nas amostras nele contidas.

Pelo método indirecto Sievert, serão analisados todos os voos a ser realizados por cada um dos pilotos que compõem a amostra do estudo, pelo período de cerca de um ano.

Serão efectuadas colheitas de produtos biológicos (sangue e urina) às amostras das populações (exposta e não exposta), aquando do início do estudo, sendo no fim efectuada nova colheita apenas à população exposta.

Revisão bibliográfica

A revisão bibliográfica, realizou-se seguindo normais conceitos de saúde ocupacional⁴⁷, de artigos científicos cujo tema estivesse relacionado com efeitos da exposição a radiação cósmica em organismos e macromoléculas de interesse.

As bases de dados científicas consultadas, são:

- ISI Web of knowledge - <http://isiwebofknowledge.com/>;
- PubMed - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>;
- Scopus - <http://info.scopus.com/>;
- Science direct - <http://www.sciencedirect.com/>;

Foram também consultados espólios documentais de acesso restrito das seguintes instituições:

- Associação dos Pilotos Portugueses de Linha Aérea (APPLA) - <http://www.appla.pt/>;
- European Aviation Safety Agency (EASA) – <http://www.easa.europa.eu/>;
- European Cockpit Association (ECA) - <http://www.eurocockpit.be/>;

⁴⁷ Gálvez Vargas R., Sierra López A., Sáenz González M.C., Gómez López L.I., Fernández-Crehuet Navajas J., Salleras Sanmartí L., Cueto Espinar A., Gestal Otero J. J., et al. Piédrola Gil, Medicina Preventiva Y Salud Pública (10ª edição). Barcelona: Masson 2001.

- International Federation of Airline Pilots' Associations (IFALPA)-
<http://www.ifalpa.org/>;

- Joint Aviation Authority (JAA) - <http://jaato.com/>;

- National Transportation Safety Board – <http://www.nts.gov/>.

Convém dizer, que se iniciou o trabalho com uma pesquisa bibliográfica extensa e disponível onde se teve em particular atenção as palavras chave:

radiações cósmicas, pilotos de linha aérea, exposição ocupacional, espécies reactivas de oxigénio, DNA, stress oxidativo.

Populações de referência e controlo

A população para a qual se pretendem extrapolar os resultados do nosso estudo (população de referência) é composta por 1091 pilotos de linha aérea afiliados da APPLA, dos quais 723 são empregados pela TAP Portugal.

Como população de controlo temos uma população fabril, composta por uma força de trabalho de 287 elementos que laboram na Vicaima^{b)} e habitam num raio de 10 kms das coordenadas 40º 51' 34" Norte e 8º 24'17" Oeste e estão sujeitos a uma exposição à radiação considerada normal.

Amostras populacionais

Para seleccionar as amostras das populações a estudar foram escolhidos, entre os 1091 pilotos afiliados da APPLA e os 287 trabalhadores fabris da Vicaima, só os que cumprissem os critérios de inclusão e não tivessem critérios de exclusão.

Critérios de inclusão: sexo masculino e pertencentes à faixa etária dos 30 aos 60 anos de idade.

Critérios de exclusão: indivíduos sujeitos às radiações por razões médicas, portadores de doenças genéticas, cancerígenas, e acrescido para a população de controlo o facto de que, por qualquer forma, não utilizem o avião ou outro onde as radiações cósmicas possam provocar efeito.

Entre os que cumpriam os critérios de inclusão distribuí-se aleatoriamente um questionário a 350 pilotos e 100 trabalhadores fabris, através da secretaria da APPLA e do Departamento de Recurso Humanos da Empresa respectivamente,

^{b)} Vicaima industria de madeiras e derivados, S.A.

para serem preenchidos e devolvidos à APPLA e ao Departamento de Recursos Humanos da Vicaima.

Rodrigo Silva

Assunto: Investigação / Doutoramento

Ex.mo Sr Comandante,

Agradeço desde já, a sua amável e pronta colaboração na presente investigação.

Pedia o favor de me informar de todos os voos que venha a realizar e não constantes das listagens oficiais da escala de serviço (por ex: lazer ou outros, onde conste o local, dia e hora de partida e chegada.

Aproveito a oportunidade para reiterar a confidencialidade de todos os dados pessoais obtidos.

Para algum esclarecimento que julgue útil e oportuno não hesite em contactar-me por e-mail : rodrigo.silva.dr@netvisao.pt

Com os melhores Cumprimentos,

Vale de Cambra, 08 de Janeiro de 2009

Figura 5-Documento distribuído aos pilotos participantes do estudo

Serão aceites todos aqueles questionários que derem entrada no período previamente estabelecido de 30 dias.

Não será demais referir o empenho da direcção da APPLA, na motivação junto dos seus associados conforme é visível na informação de serviço n.º 04/2008 aos seus associados (Anexo III). A estes, também foi solicitado (ver documento abaixo) que caso utilizassem o avião por outros motivos, para além das suas escalas de serviço, informassem por e-mail para Rodrigo Silva, enviando os dados respeitantes aos voos (data, local de origem e destino, hora de partida e chegada).

Dos pilotos responderam 182 (52%), e depois de aplicados os ditos critérios de exclusão previamente definidos, são aceites para fazer parte dos ensaios duas amostras, teste e controlo, a exposta com 49 elementos (pilotos de linha aérea) e a de controlo com 35 elementos (população fabril), respectivamente 27% e 35%, em definitivo.

Seguindo regras de protecção de dados foi atribuído um código a cada um dos indivíduos, para os pilotos o código (ZZ001,...) e para o controlo (LL001,...).

Questionário

Para seleccionar as amostras das populações, exposta e de controlo, empregamos um questionário de elaboração própria, conforme figuras 6 e 7.

Na construção do questionário foi tido em conta a clareza, coerência e neutralidade das questões de forma a permitir que este se tornasse acessível e de fácil compreensão, pese embora as diferenças socioeconómicas e culturais das duas populações.

Contendo na sua estrutura variáveis que interessam além dos dados antropométricos, idade e outros, contempla ainda antecedentes familiares, hábitos e antecedentes pessoais, que embora não venham a ser directamente utilizados nesta investigação, estaremos certos que constituirão uma importante reserva para futuros estudos desta população de pilotos.

Consentimento informado

A todos os participantes no estudo foi solicitado o consentimento informado para a utilização dos dados.

Questionário confidencial

NOME: _____ Grupo sanguíneo: _____

IDADE: _____ DATA NASCIMENTO: _____ Estado Civil: _____

SERVIÇO MILITAR

APTO		Especialidade		Local	
INAPTO		Motivo			
ISENTO		Motivo			

Peso: _____ Kg Altura: _____ cm

ANTECEDENTES FAMILIARES

Tem conhecimento de doença na sua família? Em caso afirmativo, indique os graus de parentesco (pais, irmãos, avós, tios):

	Não	Sim	Parentesco
Doenças hereditárias.....			
Tuberculose.....			
Doenças de coração.....			
Hipertensão arterial.....			
Diabetes.....			
Câncer.....			
Epilepsia.....			
Doenças mentais.....			
Alcoolismo.....			
Outras.....			

HABITOS PESSOAIS

Completar as respostas afirmativas, indicando as quantidades diárias aproximadas:

	Não	Sim	Quantidades aproximadas
Tabaco.....			
Café.....			
Vinho.....			
Cerveja.....			
Destilados (aguardente, brandy, etc.).....			

Toma habitualmente algum(s) medicamento(s)?.....

Se sim quais? _____

Desde que data _____

Segue algum regime de dieta especial?

Porquê? _____

ANTECEDENTES PESSOAIS

Sofreu ou sofre de:

	Não	Sim	Nome das doenças e datas: (Ex. Pleurisia em 1973..)
Doenças do aparelho respiratório (Primo-infecção, tuberculose, pleurisia, asma, bronquite crónica, sinusite, etc.)			
Doenças do aparelho cardio-circulatório (Doenças do coração, tensões altas, trombozes, flebites, varizes, etc)			
Doenças do tubo digestivo (Doenças do estômago, duodeno, intestinos, hemorróidas, etc)			
Doenças do fígado e vesícula (Hepatite, icterícia, calculos da vesícula, etc))			
Doenças endócrinas (Diabetes, tiroidismo, etc)			

Figura 6-Questionário (frente)

	Não	Sim
Doenças do aparelho urinário (Infecções urinárias, cálculos renais, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doenças do aparelho sexual (Doenças venereas, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doenças dos ossos e articulações (Reumatismo, espondilose, osteomielite, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doenças infecciosas e parasitárias (Paralisia Infantil, meningite, otites, amigdalites, sarampo, escarlatina, hepatite, febre tifóide, febre de malta, paludismo, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doenças do sistema nervoso (Epilepsia, convulsões, perda dos sentidos, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doenças mentais (Neurose, depressão, esgotamento, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doenças do sangue (Anemia, hemofilia, talassemia, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doenças da pele (Eczemas, alergias, tumores, etc.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Acidentes dos quais tenha resultado: (Queimaduras, intoxicações, fracturas, etc.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tem alguma deformidade, defeito ou incapacidade física? (Amputação, desvio da coluna, paralisia, hernia, etc.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Já foi operado? (Amígdalas, adenoides, quistos, apendice, fracturas, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Já fez análises ou outros exames? (Radiografias, electrocardiogramas, electroencefalograma, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Já alguma vez foi sujeito a Quimioterapia?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Já alguma vez foi sujeito a Radioterapia?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Informação adicional que julgue útil		
DATA	ASSINATURA	
____/____/____	_____	

Figura 7- Questionário (verso)

Amostras biológicas

Da resultante das duas amostras (população teste e controlo) procedemos à colheita de sangue, mediante punção venosa, e urina, percorrendo todos os procedimentos técnicos para uma boa colheita e tendo como referência o manual de colheitas (M-REC-01-02), do laboratório de análises clínicas Dr. Luís Aguiar Soares.

O produto da colheita de sangue foi distribuído por três tubos de soro redondos, um com gel destinado para análise bioquímica e o outro com EDTA para o hemograma, e a urina para dois colectores de urina.

Estas amostras clínicas de produtos biológicos foram acondicionadas em dois contentores próprios a temperaturas não superiores a 4^o C e enviados para os seguintes laboratórios:

- Departamento de Química da Universidade Nova de Lisboa onde foram quantificadas as bitirosinas, 8-hidroxi-2'desoxiguanina (8HODG) e quantificação da capacidade antioxidante do sangue por EPR.
- Departamento de Fitotecnia e ICAM (Instituto de Ciências Agrárias Mediterrânicas) da Universidade de Évora, onde foram quantificadas também 8-hidroxi-2'desoxiguanina.

Nota: Estes dois departamentos trabalham em colaboração

- Análises Clínicas Dr. Luís Aguiar Soares onde foram analisadas a hemoglobina, ferritina, proteínas totais e creatininúria.

A recolha dos produtos biológicos na amostra da população de controlo será realizada uma única vez, servindo só como meio de comparação com os valores obtidos na primeira colheita da amostra dos pilotos.

Na amostra formada pelos pilotos de linha aérea, proceder-se-á a uma segunda colheita de produtos biológicos (com intervalo de aproximadamente um ano) para análise dos elementos anteriormente referidos e nos mesmos laboratórios, e que permitirá a comparação dos resultados obtidos entre as colheitas nos dois tempos diferentes T₁ e T₂.

Medição da capacidade antioxidante no sangue por EPR

Embora existam diversas formas de avaliar a capacidade antioxidante numa amostra de sangue, para este trabalho foi escolhida uma que permita a quantificação e posterior comparação dos resultados com um grupo controlo.

Uma outra possibilidade seria a detecção directa de radicais existentes nas amostras recolhidas. Para além de se afigurar difícil do ponto de vista experimental (devido ao tempo de vida destas espécies, dificuldades na reprodutibilidade da utilização de armadilhas de spin), a resposta obtida seria sempre ambígua pois a inexistência de radicais poderia provir da falha na formação dos mesmos, de uma alta actividade das enzimas responsáveis pela sua destruição ou por ineficácia experimental em os observar ^{48,49,50}.

O ensaio escolhido tem por base a capacidade de resposta à exposição a condições adversas num fluido biológico, o sangue neste caso. Desta forma, uma determinada amostra (grupo de teste e grupo de controlo) é sujeita a uma quantidade pré-definida e controlada de radicais (hidroxilo, OH^{\bullet}). Tal como referido anteriormente, estes radicais, quando em contacto com estruturas celulares (DNA, proteínas, lípidos, etc.), produzem efeitos nocivos dada a sua elevada reactividade.

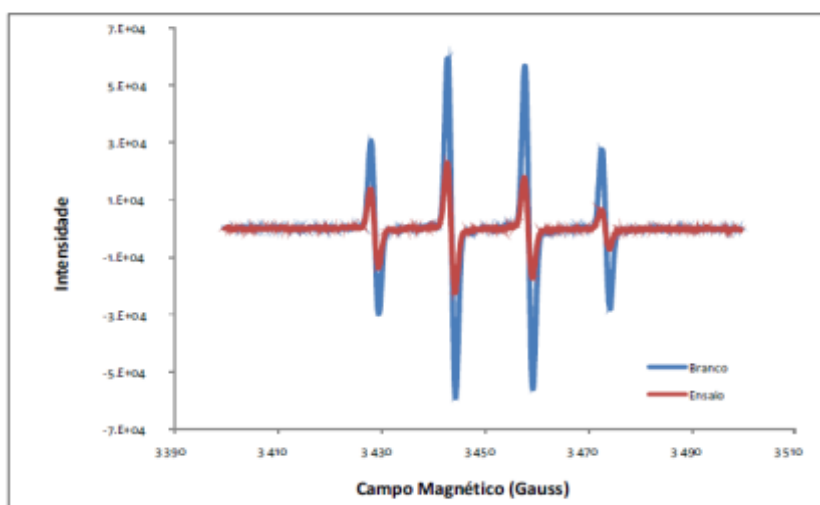


Figura 8- Espectro exemplificativo da determinação da capacidade antioxidante do sangue por espectroscopia de EPR

⁴⁸ Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British journal of pharmacology*. 2004 May;142(2):231-55.

⁴⁹ Bailey DM, Davies B, Young IS, Jackson MJ, Davison GW, Isaacson R, et al. EPR spectroscopic detection of free radical outflow from an isolated muscle bed in exercising humans. *J Appl Physiol*. 2003 May;94(5):1714-8.

⁵⁰ Pearson CG, Shikazono N, Thacker J, O'Neill P. Enhanced mutagenic potential of 8-oxo-7,8-dihydroguanine when present within a clustered DNA damage site. *Nucleic Acids Res*. 2004 Jan;32(1):263-70.

O ensaio apresentado na figura 8, contempla a geração de radicais OH^* através da reacção de Fenton. Esta reacção é baseada na decomposição catalítica de peróxido de hidrogénio em meio ácido ($\text{Fe}^{2+} / \text{H}_2\text{O}_2$) a fim de se formar a espécie reactiva hidroxilo (OH). A linha azul representa o branco do ensaio e a linha encarnada representa um exemplo de um ensaio. A diminuição na intensidade do sinal é função da capacidade antioxidante. Este método de ensaio já foi vastamente utilizado para este tipo de quantificação tal como descrito na literatura.^{51,52,53,54,55,56}

Assim, uma determinada amostra é exposta a uma determinada dose de radicais altamente reactivos e a sua capacidade antioxidante é avaliada tendo por base a quantificação dos radicais existentes após um determinado tempo de reacção.

Quantificação de 8-hidroxi-2'desoxiguanina

Para a extracção de 8-hidroxi-2'desoxiguanina (8HOdG), os fluidos biológicos (urina) serão em primeiro lugar estudados relativamente ao teor de creatinina de forma a normalizar a concentração dos diversos metabolitos em função

⁵¹ O. Augusto and S. Muntz Vaz, EPR spin-trapping of protein radicals to investigate biological oxidative mechanisms, *Amino Acids* 2007; 32: 535–542

⁵² Donatella Pietraforte And Maurizio Minetti, Direct ESR detection of peroxynitrite-induced tyrosine-centred protein radicals in human blood plasma, *Biochemical Journal* 1997; 325, 675:684

⁵³ Zhiru Ma, Baolu Zhao, Zhuobin Yuan, Application of electrochemical and spin trapping techniques in the investigation of hydroxyl radicals, *Analytica Chimica Acta* 1999; 389, 213:218

⁵⁴ Damian M. Bailey, Bruce Davies, Ian S. Young, Malcolm J. Jackson, Gareth W. Davison, Roger Isaacson, and Russell S. Richardson, EPR spectroscopic detection of free radical outflow from an isolated muscle bed in exercising humans, *Journal Applied Physiology* 2003; 94, 1714:1718

⁵⁵ Norbert Vrbjar, Stefan Zöllner, Reiner F. Haseloff, Margit Pissarek and Ingolf E. Blasig, PBN spin trapping of free radicals in the reperfusion-injured heart. Limitations for pharmacological investigations, *Molecular and Cellular Biochemistry* 1998; 186, 107:115

⁵⁶ Richard E. Glover, Edward D. Ivy, Eugene P. Orringer, Hiroshi Maeda and Ronald P. Mason, Detection of Nitrosyl Hemoglobin in Venous Blood in the Treatment of Sickle Cell Anemia with Hydroxyurea, *Molecular Pharmacology* 1999; 55, 1006:1010

dessa concentração^{57,58}. Assim, proceder-se-á à determinação da creatinina por métodos habituais.

Uma vez determinada a concentração de creatinina, diferentes volumes de urina serão utilizados para a extracção de 8HdG, submetendo as amostras a SPE (extracção em fase sólida). Os extractos obtidos serão imediatamente derivatizados e analisados, uma vez que o 8HdG é estável apenas durante poucas horas.

Após sililação com BSTFA em acetonitrilo e etanol a amostra é analisada por GC-FID e GC/MS usando como padrão interno 8HdG (Figuras 9, 10 e 11).

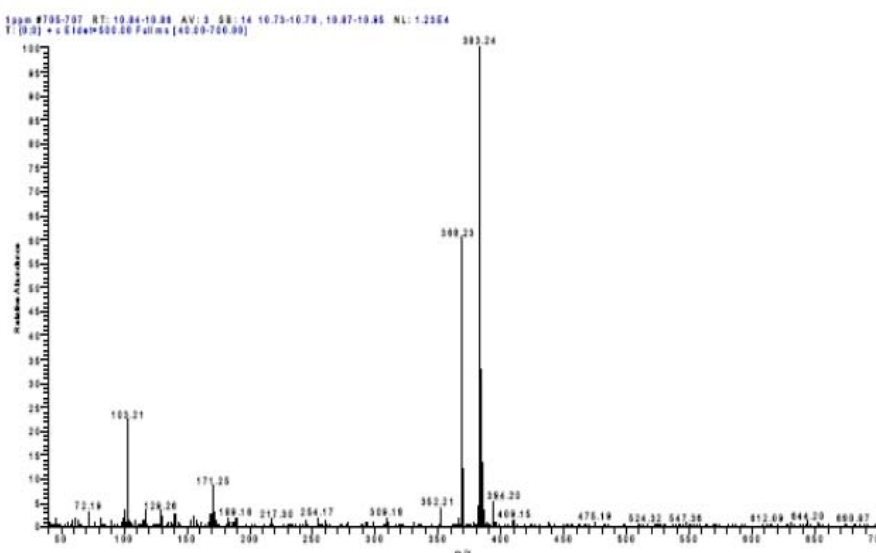


Figura 9- Espectro de massa do 8OHdG-TMS.

O cálculo de 8HdG na urina será obtido em mole de 8HdG/mole de creatinina.

⁵⁷ Cooke MS, Evans MD, Dove R, Rozalski R, Gackowski D, Siomek A, et al. DNA repair is responsible for the presence of oxidatively damaged DNA lesions in urine. Mutation research. 2005 Jul 1;574(1-2):58-66.

⁵⁸ Tondel M, Arynchyn A, Jonsson P, Persson B, Tagesson C. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine in Belarussian children relates to urban living rather than radiation dose after the Chernobyl accident: A pilot study. Arch Environ Contam Toxicol. 2005 May;48(4):515-9.

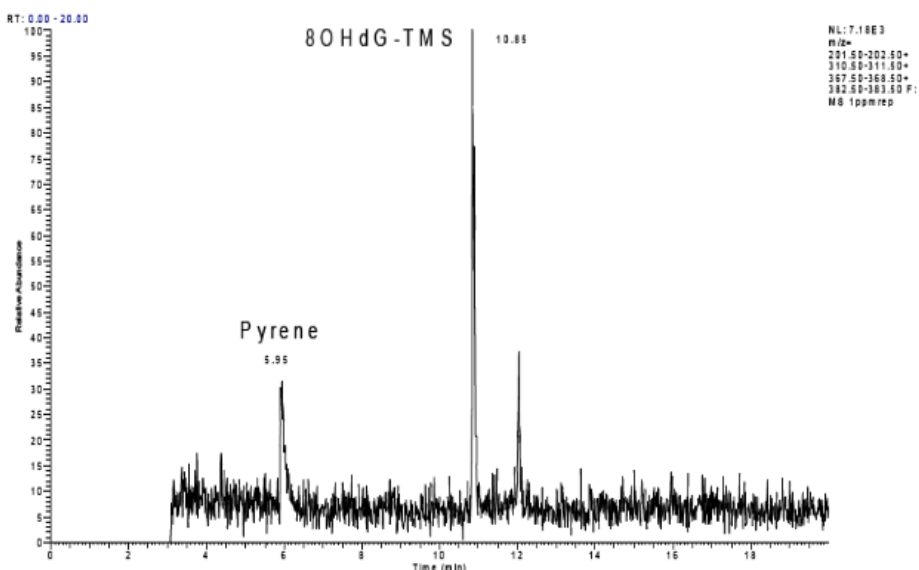


Figura 10 - Cromatograma de padrão de 8OHdG (1.00 ppm) adicionado de padrão externo (pireno, 1.26 ppm)

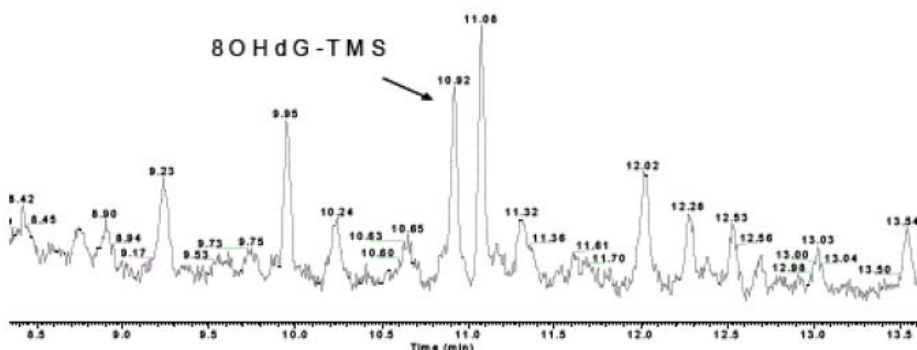


Figura 11 - Cromatograma de uma amostra de urina. O pico de 8OHdG está indicado no cromatograma.

Quantificação de bitirosina

A exposição de proteínas à radiação cósmica pode, através da formação de determinados tipos de ROS, tais como radicais hidroxilo, promover a sua oxidação através da eliminação de átomos de hidrogénio da cadeia polipeptídica. Esta situação vai originar uma cascata de espécies radiculares

potencialmente danosas para as estruturas celulares. A formação de bitirosinas é uma consequência deste processo⁵⁹.

Para além do mencionado anteriormente, as bitirosinas podem surgir também como, um componente natural de algumas proteínas, um produto de stress ambiental ou como um produto de modificação *in vitro* de proteínas.

Dadas as suas características pode funcionar como uma sonda de fluorescência em situações onde ocorreram “cross-link” de proteínas. A sua quantificação pode então ser relacionada com a extensão de danos causados pela formação de radicais em proteínas. As metodologias normalmente usadas para este tipo de quantificação são baseadas em cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) acopladas a espectroscopia de fluorescência, tal como descritas por Giulivi *et al.* em 2001.^{60,61} Esta quantificação pode ser feita por diversos métodos, cromatografia líquida de alta pressão, por exemplo.

Porém, neste caso será usada uma outra forma de quantificação que tem por base a emissão de fluorescência das bitirosinas formadas.

Doseamento da ferritina nas amostras de sangue

Pela sua importância clínica⁶² o doseamento de ferritina no soro é um indicador sensível das reservas de ferro no organismo. É especialmente útil na distinção da anemia por deficiência de ferro ou por doenças crónicas, visto que nesta os níveis séricos se encontram aumentados. Um nível de ferritina sérico inferior a 10 µg/L é um indicador fiável de deficiência de ferro. Para além das doenças crónicas, existem outras patologias que cursam com níveis de ferritina sérica aumentadas, tais como: anemia aplástica, anemia sideroblástica e anemias hemolíticas crónicas. Na hemocromatose idiopática e em doentes politransfundidos, a ferritina sérica pode atingir níveis elevadíssimos.

⁵⁹ Malencik DA, Anderson SR. Dityrosine as a product of oxidative stress and fluorescent probe. *Amino acids*. 2003 Dec;25(3-4):233-47.

⁶⁰ Cecilia Giulivi and Kelvin J. A. Davies, Dityrosine and Tyrosine Oxidation Products Are Endogenous Markers for the Selective Proteolysis of Oxidatively Modified Red Blood Cell Hemoglobin by (the 19 S) Proteasome, *The Journal Of Biological Chemistry*, April 1993; 268(12): 8752-8759

⁶¹ Cecilia Giulivi and Kelvin J. A. Davies, Mechanism of the Formation and Proteolytic Release of H2O2-induced Dityrosine and Tyrosine Oxidation products in Hemoglobin and Red Blood Cells, *The Journal Of Biological Chemistry*, June 2001; 276(26): 24129–24136

⁶² Fair banks VF, Klee GG. Biochemical aspects of hematology. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of clinical chemistry*. Philadelphia. WB Saunders Company, 1987:823pp.

Quanto à metodologia usada na determinação da ferritina sérica^{63,64} o mais frequente método analítico usado nesta determinação consiste em Imuno-Turbidimetria^{62,63}. Durante o procedimento analítico, o reagente *Olympos Ferritin* (que consiste numa suspensão de partículas de látex e poliestireno, de tamanho uniforme, revestidas por anticorpos policlonais de coelho, anti-ferritina humana), é adicionado à amostra de soro que contém ferritina, ocorrendo reacções antigénio-anticorpo e a consequente formação de partículas em suspensão. Esta solução é atravessada por um feixe de luz e a medição da diminuição da intensidade de luz transmitida é directamente proporcional à quantidade de analito presente na amostra.

A determinação analítica é efectuada no equipamento de Bioquímica Clínica, Olympus AU640® - Olympus Life and Material Science Europa.

Doseamento das proteínas totais nas amostras de sangue

Com importância clínica⁶⁵ este ensaio, consiste na determinação de todas as proteínas séricas em circulação no sangue. Os dados obtidos através desta quantificação são essenciais para o diagnóstico e tratamento de doenças que envolvem o fígado, rins ou a medula óssea, bem como outras perturbações ao nível nutricional ou metabólico. Um desvio relativamente ao intervalo de referência pode indicar a presença de desproteinemia ou uma perturbação do equilíbrio de água no organismo.

O ensaio utilizado para a quantificação das proteínas totais nas amostras baseia-se na formação de um composto corado azul-violeta. Este composto com máximos de absorção a 540 e 660 nm é derivado da reacção, em meio básico, de iões Cu^{2+} com as proteínas. As medições de cada amostra são então efectuadas espectrofotometricamente a 540 e 660 nm. Os valores obtidos são directamente proporcionais com a quantidade de proteína presente na amostra.

⁶³ Bernard A, Lauwerys R. Turbidimetric latex immunoassay for serum ferritin. *Journal of Immunological methods* 1984;71:141-147.

⁶⁴ Thompson SG, Principals for competitive binding assays. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. *Clinical Chemistry theory, analysis and correlation*. St Louis: Mosby, 1996:265pp.

⁶⁵ Thomas L. Total protein. In: Thomas I. ed. *Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results*. Frankfurt/main: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:644-647.

A metodologia usada na determinação de proteínas totais no sangue⁶⁶ é efectuada segundo o método de Biureto. É um método colorimétrico em ponto final, no qual iões cobre presentes no reagente, reagem com as proteínas da amostra em meio alcalino (obtido pelo hidróxido de sódio, que faz parte do reagente adicionado) e formam um complexo de cor púrpura. A absorvância deste complexo a 540 nm e 660 nm é directamente proporcional à concentração de proteínas na amostra.

A determinação analítica é efectuada no equipamento de Bioquímica Clínica, Olympus AU640® - Olympus Life and Material Science Europa.

Doseamento da hemoglobina nas amostras de sangue

A hemoglobina é uma proteína hemica, constituinte do sangue e fundamental para o transporte gasoso no organismo.

Para além disso, a hemoglobina tem sido também utilizada como marcador biológico em processos de destruição de proteínas uma vez que associados a si existem diversos produtos de degradação, entre os quais as bitirosinas.

Assim, a sua quantificação neste estudo torna-se importante como forma de comparação com a quantidade de bitirosinas formadas em cada indivíduo.

A metodologia usada na determinação de hemoglobina no sangue⁶⁷ é efectuada segundo o método de Cianometahemoglobina. Durante o procedimento analítico, a amostra de sangue é adicionada ao reagente ADVIA 120 HGB, que provoca a lise dos eritrócitos e libertação da hemoglobina neles contidos. De seguida o ferro-heme da hemoglobina é oxidado, (passando do estado ferroso, para o estado férrico) e posteriormente combinado com cianeto existente neste reagente, formando o produto de reacção. Este é submetido de seguida a leituras ópticas colorimétricas a 546 nm. O valor da hemoglobina da amostra é calculado pela sua transmitância, conforme a fórmula : $HGB = \log (T. \text{ média amostra} / T. \text{ média base}) \times \text{factor calibração Hgb} \times 50$.

A determinação analítica é efectuada no equipamento de Hematologia, ADVIA120® - Siemens Medical Solutions Diagnostics.

⁶⁶ Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Amer J Clin ath 1946; 16:40-48.

⁶⁷ Malin MJ, Fan SS and Benezra J: Mechanism of automated alkaline methods for the determination of hemoglobin in whole blood based on the micellinization of ligated heme in presence and absence of cyanide. Anal Chim Acta 262:67 (1992).

Doseamento da creatinina nas amostras de urina

Com a sua relevante importância clínica^{68,69} a creatinina é um produto metabólico da creatina e da fosfocreatina, presentes quase exclusivamente nos músculos. Como tal, a creatinina é proporcional à massa muscular e varia pouco de dia para dia.

A determinação da quantidade de creatinina é então utilizada no diagnóstico e tratamento de doenças renais, revelando-se útil na avaliação da função glomerular dos rins e na monitorização da diálise renal. Porém, o nível de soro não é sensível a lesões renais prematuras e responde mais lentamente do que o azoto da ureia no sangue (BUN) à hemodiálise durante o tratamento da disfunção renal. Tanto a creatinina do soro como o BUN são utilizados para diferenciarem a azotemia (obstrutiva) pré e pós-renal. Uma subida do BUN no soro sem aumento concomitante da creatinina do soro é imprescindível para identificar a azotemia pré-renal. Em condições pós-renais quando existe obstrução do fluxo urinário (malignidade, nefrolitíase e prostatismo), os níveis de creatinina do plasma e de ureia serão aumentados. Nestas situações a subida é desproporcionalmente superior para o BUN devido à retrodifusão acrescida da ureia.

O ensaio para a quantificação da creatininúria utilizado neste estudo é mais uma vez colorimétrico, baseando-se na formação, em meio básico, de um composto amarelo alaranjado, resultado da reacção da creatinina com o ácido picrico. A variação na absorção a 520 e 800 nm é proporcional à concentração de creatinina na amostra.

Na metodologia usada na determinação de creatinina na urina^{70,71} sobressai o método analítico colorimétrico cinético – Método de Jaffé. Durante o procedimento a amostra de urina é adicionada ao reagente que contém ácido picrico e hidróxido de sódio. Da reacção da creatinina, contida na amostra, com o ácido picrico em meio alcalino, forma-se um composto amarelo alaranjado – o complexo picrato de creatinina. São efectuadas leituras de

⁶⁸ Newman DJ, Price CP. Renal function and nitrogen metabolites. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz textbook of clinical Chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999; 1239-1242.

⁶⁹ Thomas L. Creatinine. In: Thomas I. ed. Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998; 366-371.

⁷⁰ Cook JGH. Creatinine assay in the presence of proteins. Clin Chim Acta 1971;32:485-486.

⁷¹ Larsen K, Creatinine assay in the presence of proteins with LKB 8600 reaction rate analyser. Clin Chem Acta 1972;38:475-6.

absorvância a 520 nm e 800 nm e as variações obtidas são proporcionais à concentração de creatinina na amostra.

A determinação analítica é efectuada no equipamento de Bioquímica Clínica, Olympus AU640® - Olympus Life and Material Science Europa.

Medição das radiações cósmicas

A determinação das doses de radiação recebidas pelos pilotos, como exposição ocupacional, em todos os voos realizados durante o tempo de investigação, foi efectuada utilizando o método indirecto Sievert. Este método tem por base um elevado número de observações, tomando em consideração os diversos fenómenos solares, o que permite diminuir a incerteza estatística, tornando-o mais robusto^{72,73,74}.

Para suportar melhor a segurança deste método, comparar e normalizar os resultados obtidos por ele, utilizaremos, em 51 voos previamente seleccionados, o método directo GM10 e o método indirecto CARI-6.

No caso da população controlo, será elaborada uma monitorização directa por um período de 7 dias consecutivos.

Método directo

Para a quantificação directa das doses de radiações foi utilizado um contador Geiger GM10, Black Cat Systems, com software adequado (Figura 13) tendo sido adquiridos propositadamente para este estudo dois aparelhos.

Entrados e instalados no cockpit, procede-se à montagem deste equipamento que é ligado quando são retirados os “calços” ao avião, e desligado quando este se imobiliza no destino, referenciado na linguagem aeronáutica por “calço a calço”.

⁷² Bottollier-Depois JF, Chau Q, Bouisset P, Kerlau G, Plawinski L, Lebaron-Jacobs L. Assessing exposure to cosmic radiation on board aircraft. *Adv Space Res.* 2003;32(1):59-66.

⁷³ Lantos P, Fuller N, Bottollier-Depois JF. Methods for estimating radiation doses received by commercial aircrew. *Aviation, space, and environmental medicine.* 2003 Jul;74(7):746-52.

⁷⁴ Lantos P, Fuller N. History of the solar particle event radiation doses on-board aeroplanes using a semi-empirical model and concorde measurements. *Radiation protection dosimetry.* 2003;104(3):199-210.

O dito contador TEPC (Tissue-Equivalent Proportional Counter), é capaz de medir doses directamente. Utiliza uma série de detectores (p.e. câmaras de ionização, contadores de cintilação ou proporcionais para a componente ionizante e os chamados contadores rem para a componentes de neutrões), cada um capaz de registar um de vários tipos de radiação ionizante.

O TEPC é um aparelho bom para medições de radiação complexa durante voos a altitudes a partir de 10 km. A medida é baseada em dose absorvida de tecido equivalente e como tal não é necessário conhecer a composição exacta do campo de radiações. Um TEPC é constituído por um cilindro pequeno (pouco volumoso e portanto fácil de adaptar a medições no interior de cockpits) contendo uma mistura gasosa a baixa pressão. Esta mistura (tipicamente 55% C₃H₈, 40% CO₂ e 5% N₂) simula o equivalente de um tecido biológico (pequeno, alguns µm) localizado no interior do organismo. Estes detectores são directamente sensíveis às partículas ionizantes (iões, electrões e raios-γ) e a neutrões via partículas carregadas secundárias geradas pela interacção com as paredes do TEPC.

A integração da contribuição de todas as partículas é a base do cálculo da dose equivalente que pode ser, portanto, efectuado sem factores de correcção que levem em conta os diferentes tipos de radiação.

À medição em cada um dos voos seleccionados, foi atribuído um código, conforme abaixo se demonstra na figura 12, de forma a ser possível a obtenção de todos os parâmetros necessários para uma boa identificação do voo (operador, data, local de origem e destino, companhia aérea, número de voo, hora de partida e hora de chegada).

RS091103LIS/EWR_TP103_1135/1505

RS: operador – Rodrigo Silva

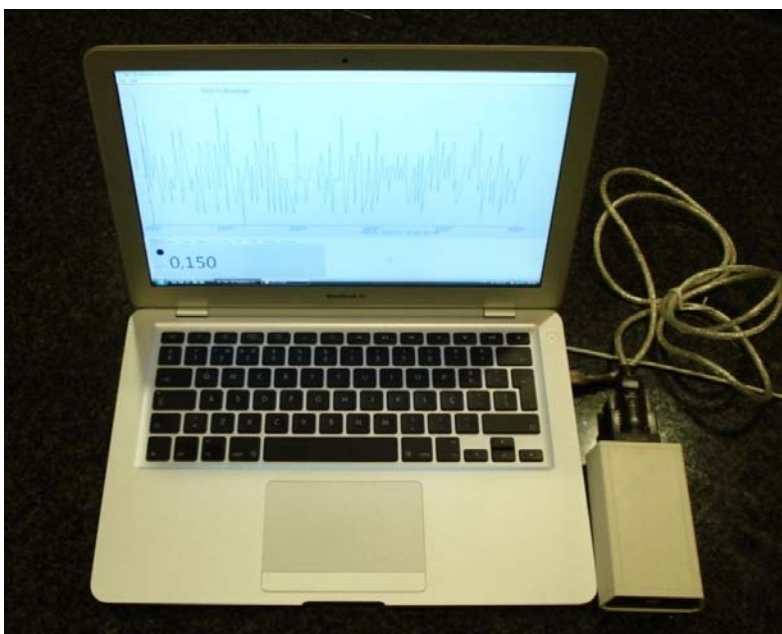
091103: data – 3 de Novembro de 2009

LIS/EWR: origem e destino – Lisboa/Newark

TP103: companhia aérea e número de voo – TAP PORTUGAL, voo nº103

1135/1505: hora de partida e de chegada – Partida 11:35 Chegada 15:05

Figura 12-Exemplo de código de voo medido



GM-10 Specifications

Size: 4.25 by 2.6 by 1.2 inches (108 by 66 by 30 mm)
 Weight: 3.6 ounces (102 grams)
 Window: Mica, 1.75 mg/cm²
 0.36 inch / 9.1 mm diameter
 Radiation detected:
 Alpha - Above 3 MeV
 Beta - Above 50 keV see our [Beta Ray Sensitivity](#) specs.
 Gamma / X-Ray - Above 7 keV
 Power requirements: Self powered from computer
 Computer Hardware Requirements:
 USB version - USB port
 Serial versions - One available serial port
 Macintosh: PowerPC processor
 Windows: Pentium or better
 Computer Software Requirements:
 Windows 98/2000/NT/XP
 Macintosh MacOS 7.6 to 9.2, OSX 10.1.2 or later
 Software Features:
 Built in graphing
 Ability to store data to disk for further analysis
 User selectable integration times
 Built in statistics package
 Trend line may be superimposed over graphed data
 "Geiger Counter" clicking may be enabled

Figura 13 - GM-10 (Detector de radiações e Ordenador)

Na figura 14 pode observar-se um teste de medição da radiação cósmica num voo de longo curso. Os pontos azuis representam os valores medidos directamente com o contador e a vermelho os valores da altitude (patamares),

e a linha amarela considera os valores médios das medições ao longo do tempo. O valor da dose pode ser calculado por integração da curva a amarelo através do método dos trapézios ou pelo método de Simpson. Este valor é então comparável ao valor estimado pelos programas, SIEVERT ou CARI-6.

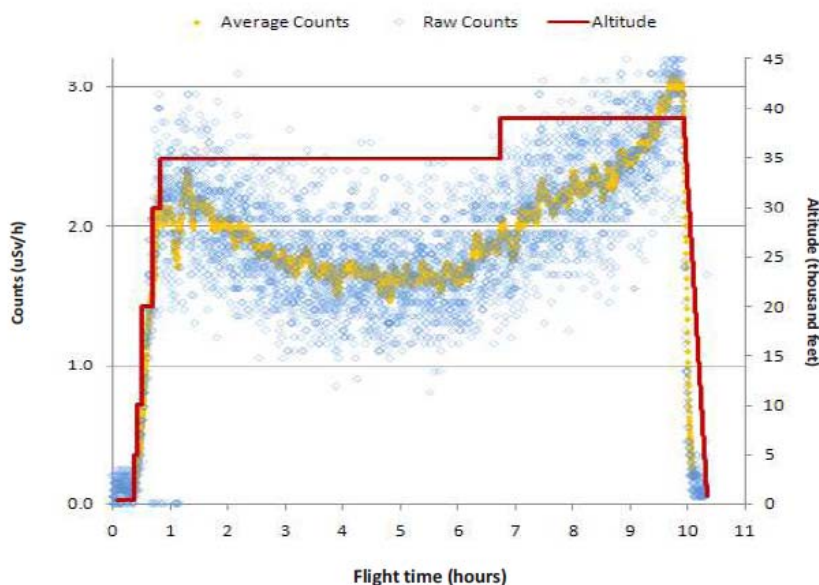


Figura 14- Teste da medição das radiações cósmicas para um voo de longo curso pelo método directo

Método indirecto SIEVERT

O método indirecto SIEVERT, disponível na Internet no endereço electrónico, <http://www.sievert-system.org/>, é um método de avaliação da dose da radiação efectiva que consiste na associação da dose de radiação absorvida, sendo este parâmetro capaz de estimar o efeito biológico atribuível à radiação.

Para se aplicar este método temos de introduzir, para cada voo, os dados para o preenchimento de um ficha conforme consta da figura 15. Utiliza os códigos dos aeroportos seguindo as normas da IATA (Internacional Air Transport Association), exigindo os dados da dia e hora do voo, partida e chegada, bem como, a origem e destino. Numa primeira fase pode obter-se uma estimativa da dose recebida, sendo que posteriormente se pode obter uma estimativa mais rigorosa, pois já entra em linha de conta com um outro parâmetro da modulação da actividade solar.



Non forecast calculation

DEPARTURE :

Country : SOUTH AFRICAN REP

City : JOHANNESBURG

Date : 22 03 2009

Time : 21 27

ARRIVAL :

Country : PORTUGAL

City : LISBONE

Date : 23 03 2009

Time : 05 12

Type of aircraft : Subsonic

Calculate the cosmic radiation dose received during this flight vol
 Calculate

SIEVERT System implemented and integrated by LOGATIQUE

"Subject to local regulation modifications, the flight dates and times include time difference and, if necessary daylight saving time. Check the flight time."

Dose received during the flight = 0.0218 mSv
 Flying time = 09:45 (HH:MM)

Departure city	Arrival city	Departure date	Arrival date	mSv	Estimated
JOHANNESBURG	LISBONE	22/03/2009 21:27	23/03/2009 05:12	0,02180	-
				Total	0,02180

<http://www.sievert-system.org/WebMasters/en/evaluation.html>

Figura 15 - Ficha modelo Sievert

Método indirecto CARI-6

O método indirecto CARI-6 disponível na internet, com o endereço, <http://www.jag.cami.jccbi.gov/>, tem também por base a avaliação da dose efectiva.

Para utilizar este método também é necessário recorrer ao preenchimento de uma ficha modelo, conforme a Figura 16.



**FEDERAL AVIATION ADMINISTRATION
OFFICE OF AEROSPACE MEDICINE
CIVIL AEROSPACE MEDICAL INSTITUTE**



Flight Summary		
Date of Flight	03/2009	
Origin Code	FAJS	JOHANNESBURG, SOUTH AFRICA
Destination Code	LPPT	LISBON, PORTUGAL
Number of en route altitudes	3	
Minutes to 1st en route altitude	28	
En route altitude(s) and time(s)	Altitude (in feet)	Minutes at altitude
	36000	150
	38000	185
	40000	190
Minutes descending to touchdown	32	
Effective Dose	29.14 microsieverts (0.02914 millisieverts)	

[Calculate Another Flight Dose](#)

[CAMI](#) | [Certification](#) | [Education](#) | [Human Resources](#) | [Research](#) | [Occupational Health](#) | [Publications](#) | [Links](#) | [Search](#) |

<http://jag.cami.jccbi.gov/cariresults.asp>

Figura 16 – Ficha modelo Cari 6

Difere do método SIEVERT no que respeita aos códigos dos aeroportos de origem e destino, sendo neste caso utilizado os da ICAO (Internacional Civil Aviation Organization) que ao contrário dos códigos IATA, têm uma estrutura regional. Em geral a primeira letra é alocada pelo continente e representa um

país ou um grupo de países dentro desse continente. A segunda letra representa geralmente um país dentro dessa região, e os dois restantes são usados para identificar cada aeroporto, por exemplo, Lisboa com código IATA-LIS, e em código ICAO - LPPT. Apenas necessita da informação mês e ano, no entanto, para estimar as doses relativas aos voos necessita ter disponíveis os tempos de subida e descida desde o primeiro patamar de altitude, bem como a duração de cada patamar.

“Kit” biológico

Para determinar a quantificação do dano produzido nos produtos biológicos, levamos a cabo dois ensaios experimentais:

a) No primeiro ensaio (figura 19) pretende-se determinar os danos provocados em componentes celulares como o DNA e proteínas. Este teste é composto por um conjunto de amostras contendo (DNA; DNA e ferro; DNA, ferro e proteínas envolvidas na protecção do DNA). A avaliação do DNA após a exposição será indicadora dos danos causados pela exposição a este tipo de radiação.

b) No segundo ensaio pretende-se avaliar os danos causados directamente num tipo de célula, bem como a relevância/eficiência dos mecanismos de protecção existentes dentro das células. Desta forma, dois tipos de células (uma modificada para ser resistente ao stress oxidativo e outra que funcionará como controlo) serão expostas à radiação cósmica e posteriormente testadas a fim de verificar a sua capacidade de sobrevivência.

Para levar a cabo estas experiências projectamos, concebemos e construímos dois exemplares de uma caixa de chumbo (Pb), revestida a aço inoxidável (AISI-304L), com as dimensões e características do esquema apresentado nas figuras 17 e 18.

Esta caixa será utilizada no transporte das amostras de células, proteínas e DNA, disponibilizadas pelo Departamento de Química da FCT/UNL. A mesma é colocada no cockpit pelo operador, permanecendo aberta, para exposição das amostras, no mesmo período da contagem da radiação.

Após cada ciclo (voo de ida e regresso), o “kit” será transportado para o laboratório de Biofísica Molecular do Departamento de Química da FCT/UNL, onde as amostras serão devidamente analisadas.

Ainda, e para se poder fazer passar nas seguranças dos aeroportos foi criada pela FCTUNL-DQ, uma credencial com a qual o operador se fará acompanhar e que se apresenta no anexo IV.

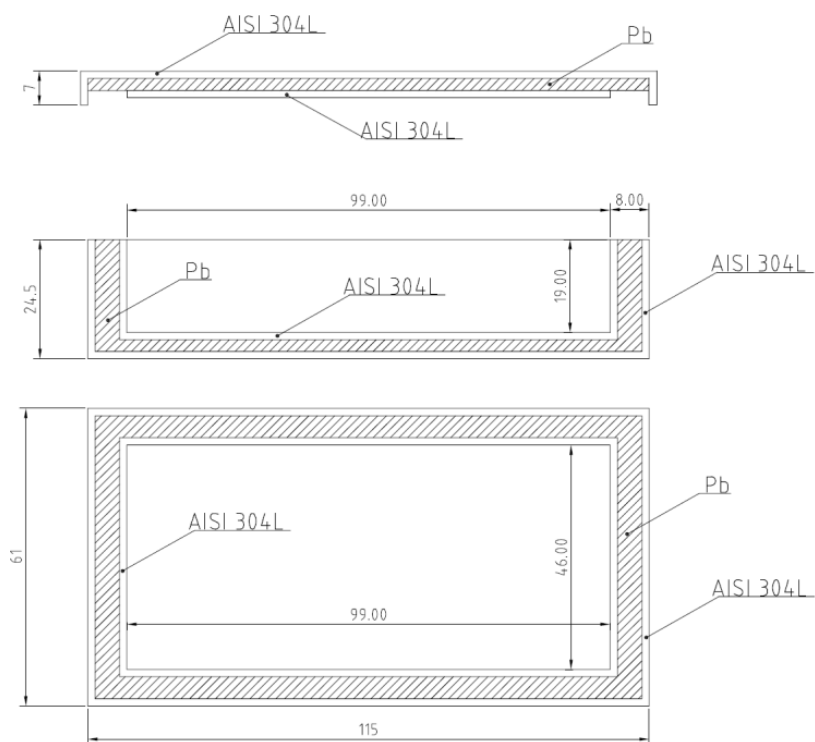


Figura 17- Kit biológico (caixa e esquema)



Figura 18 - Kit biológico, registros de voos e frascos contentores de amostras biológicas

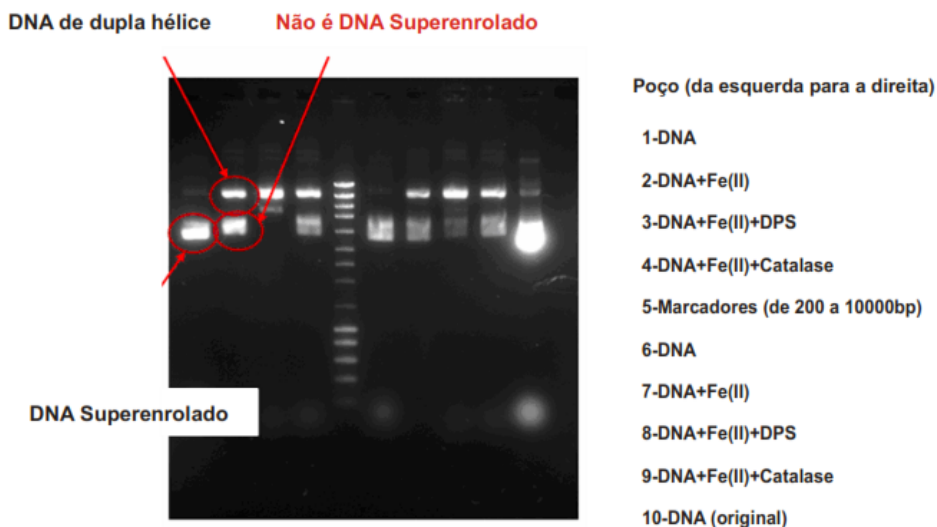


Figura 19 - Gel de agarose 0.8% das amostras sujeitas à radiação cósmica sofrida num voo comercial comparadas com amostras semelhantes, expostas durante o mesmo período mas ao nível do mar.

Análise multivariável

Este método envolve uma grande complexidade matemática, "invisível" ao usar um software estatístico adequado, mas que no entanto nos permite trabalhar a inferência estatística no sentido das conclusões/conhecimento científico produzido pelo estudo.

É evidente que neste estudo, como é normal, existe uma expectativa mais ou menos intuitiva, e a pesquisa feita pretende traduzir esta expectativa num problema/proposta de trabalho.

Neste caso concreto, pretendemos verificar como as amostras se relacionam, ou quanto são semelhantes segundo as variáveis estudadas.

Agrupamentos por "clusters" hierárquicos (HCA), em que, podemos ter agrupamentos de amostras ou agrupamentos de variáveis, conforme se considere cada amostra como um ponto no espaço multidimensional descrito pelas variáveis escolhidas ou cada variável como um ponto no espaço multidimensional descrito pelas amostras. Na primeira situação é possível calcular a distância do ponto (amostra) a todos os outros pontos, constituindo-se assim uma matriz de distâncias que descreve a proximidade entre as amostras estudadas.

Baseadas nesta matriz constrói-se um diagrama de similaridade chamado "dendograma".

Os cálculos para a sua construção são feitos por software adequado e a sua interpretação é intuitiva: duas amostras próximas devem ter também, valores semelhantes para as variáveis medidas.

O dendograma permite ter uma visão bidimensional da similaridade ou dissimilaridade de todo o conjunto de amostras utilizadas.

Como as variáveis são de escalas diferentes terá de ser feito um tratamento prévio dos dados, caso contrário, as que têm valores numéricos mais altos seriam mais importantes no cálculo, do que as que têm valores numéricos mais baixos. O pré-tratamento usado é a transformação Z, que transforma as medidas de cada variável de modo que o conjunto dos dados tenha média zero e variância um. Assim, todas as variáveis serão tratadas com igual importância e mais uma vez, se recorre a "pacotes estatísticos".

Análise de componentes principais (PCA), utiliza-se para reduzir o número de variáveis e possibilitar/facultar uma visão estatisticamente privilegiada do conjunto de dados.

Esta análise baseia-se na interpretação adequada da matriz de dados.

À falta de conhecimento profundo de operação com matrizes, pode-se utilizar noções de álgebra linear. Assim, o ponto é a amostra, os valores de cada uma das coordenadas são os valores das variáveis medidas, as componentes principais são as novas variáveis geradas através de uma transformação matemática especial realizada sobre as variáveis originais e cada componente principal é uma combinação linear de todas as variáveis originais.

De um modo geral um sistema com n variáveis, após transformação terá n componentes principais e cada uma destas, por sua vez, será escrita como uma combinação linear das n variáveis originais.

Nesta combinação, cada variável terá um peso diferente. As componentes principais, passam a ser mais efectivas do que as variáveis originais para a análise do conjunto das amostras, pelo facto de:

- As possíveis correlações entre as variáveis são suprimidas nas componentes principais, já que estes são ortogonais entre si, trazendo cada uma, uma informação estatística diferente dos outros.

- O modo como as componentes principais são geradas maximiza a informação estatística para cada uma das coordenadas que está a ser criada.

Enquanto as variáveis originais têm a mesma importância estatística, as componentes têm importância estatística decrescente. Por este facto as primeiras componentes principais são tão mais importantes que podemos desprezar as demais.

Por estes motivos as componentes principais podem ser analisadas separadamente, devido à ortogonalidade e podem servir para visualizar o conjunto de amostras apenas pelo gráfico das duas componentes principais (diminui o número).

IV. Resultados

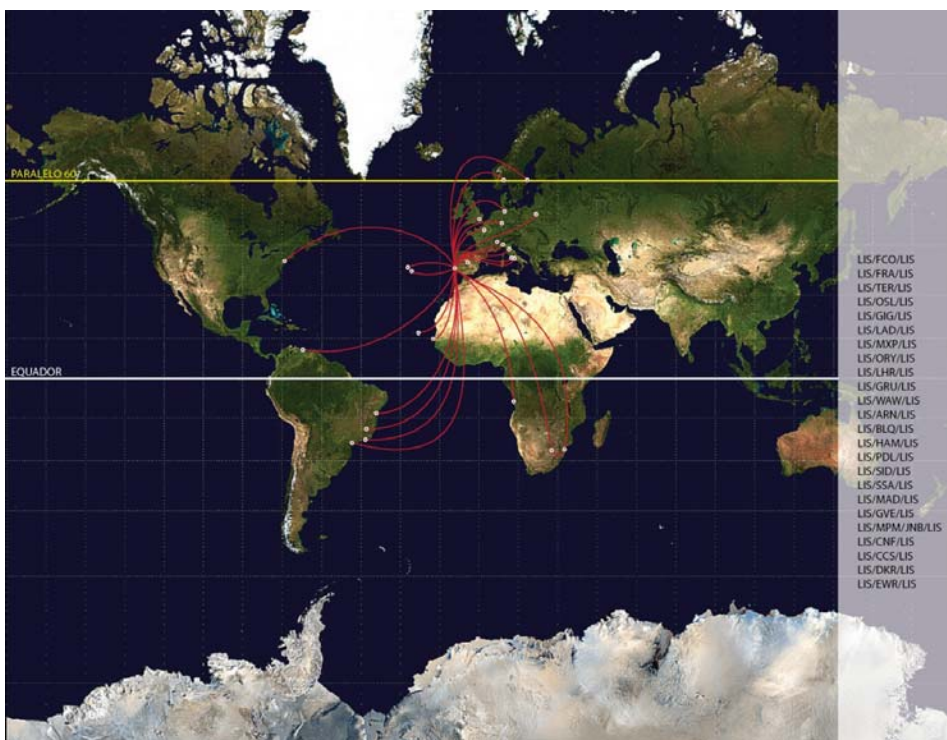


Figura 20 - Voos monitorizados com medição directa das radiações

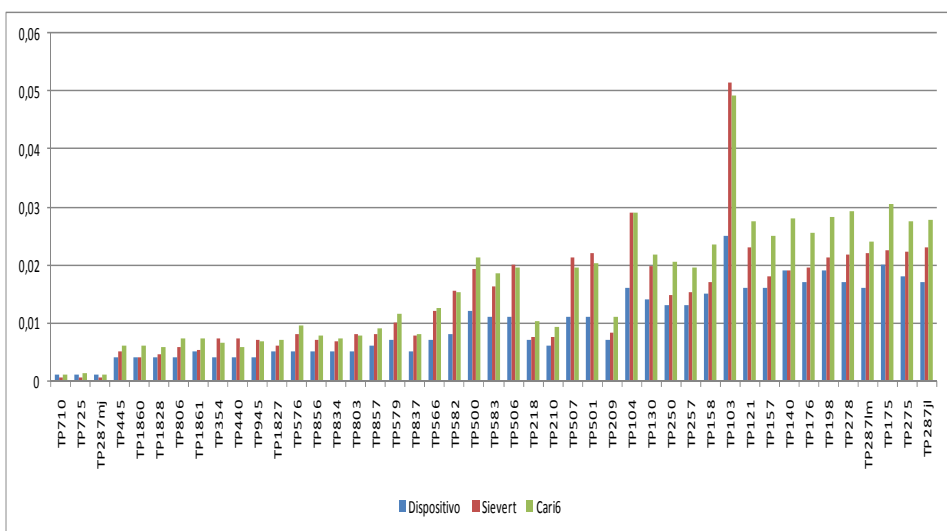


Figura 21 - Resultados da radiação total obtida em alguns dos voos seleccionados.

Comparados os valores obtidos pelo método directo e os indirectos, no final e para utilizar na investigação foi escolhido o método SIEVERT. Esta escolha teve

por base uma maior proximidade aos valores obtidos pelo método directo, além de que este não necessita de informação referente aos patamares de voo, como acontece no CARI-6.

Na figura 21, podemos observar os valores das radiações totais recebidas utilizando os três métodos para alguns voos seleccionados, e por ordem crescente de duração dos mesmos.

Dada a impossibilidade física de monitorizar todos os pilotos em estudo e todos os voos por eles realizados, tornou-se indispensável utilizar o método indirecto, cujo valor mais se aproximava dos valores que foram obtidos experimentalmente pelo método directo com o dispositivo GM-10.

Compararam-se os dois métodos indirectos (Figura 22), tendo como base o método directo, que corresponde à linha de valor 1.

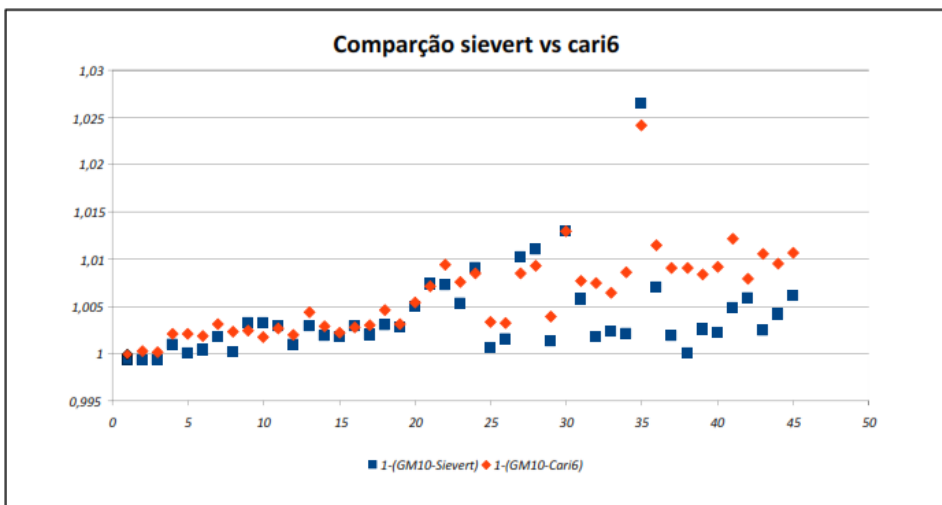


Figura 22 - Gráfico comparativo dos dois métodos indirectos (CARI-6 e SIEVERT) e o método directo tendo por base a linha de valor 1.

Assim, o método indirecto SIEVERT foi utilizado para avaliação de um total de 7405 voos, sendo 1366 de longo curso e 6039 médio curso, correspondendo a um período de observação e recolha de dados de cerca de 12 meses, cujos resultados estão presentes na tabela 4.

Para que se possa ter a noção da sequência dos procedimentos necessários para a determinação da quantidade de radiações recebidas por piloto pelo método indirecto SIEVERT, e que acabam por embocar nos dados da tabela 4, apresentamos de forma esquemática duas tabela 5 e 6 que são representativas de tal acção.

Conforme atrás se fez referência, foi ainda utilizado o método CARI-6 para os voos seleccionados, tendo sido estes comparados com os valores obtidos pelos métodos directo e indirecto SIEVERT o que pode ser observado em parte na tabela 8.

Tabela 4 - Resumo dos dados com utilização do método SIEVERT

curso	Piloto (código)	Radiação	dias de estudo	idade	Radiação ano	Horas de voo	nº voos
m	40	1,90910	389	38	1,791315	607:46:00	263
m	48	1,53130	383	41	1,459333	458:00:00	188
m	20	1,29450	383	39	1,233662	417:51:00	186
m	23	2,11790	402	40	1,922969	630:06:00	264
m	27	2,22520	389	39	2,087913	689:00:00	275
m	38	2,92850	393	35	2,719854	765:27:00	310
m	13	2,27630	413	32	2,011742	673:26:00	281
m	4	1,40630	355	45	1,445914	541:35:00	262
m	14	2,50260	416	38	2,195791	760:00:00	317
m	44	2,34510	394	36	2,172491	713:01:00	289
m	45	2,37590	394	31	2,201024	747:22:00	316
m	3	2,31010	348	46	2,422950	654:33:00	263
m	18	2,33140	372	37	2,287530	721:13:00	298
m	22	2,25500	348	47	2,365158	605:01:00	246
m	31	2,00280	348	35	2,100638	574:54:00	249
m	9	0,91120	345	50	0,964023	282:19:00	122
m	7	2,30710	345	36	2,440845	710:17:00	283
m	46	1,79680	306	40	2,143242	557:47:00	237
m	24	1,97240	345	40	2,086742	615:44:00	251
m	36	2,34430	367	34	2,331525	723:07:00	304
m	19	2,24010	306	35	2,672015	654:22:00	273
m	17	1,66550	305	49	1,993139	509:26:00	207
m	32	0,80200	348	36	0,841178	266:26:00	112
m	1	2,02900	348	41	2,128118	603:18:00	243
l	26	1,40730	383	44	1,341161	573:54:00	69
l	34	1,69810	402	41	1,541807	628:29:00	76
l	33	1,63370	382	54	1,560996	558:39:00	71
l	49	1,23980	374	41	1,209965	506:44:00	61
l	37	0,93570	372	44	0,918093	512:43:00	68
l	2	1,06730	374	47	1,041616	367:34:00	46
l	10	1,81920	354	57	1,875729	673:29:00	84
l	29	1,32000	354	42	1,361017	580:26:00	67
l	16	1,40310	354	46	1,446699	567:34:00	69
l	12	1,29730	352	46	1,345212	503:52:00	59
l	6	1,50410	341	59	1,609960	469:08:00	56
l	41	1,50850	335	43	1,643590	538:41:00	66
l	25	1,45560	319	52	1,665498	493:03:00	56
l	30	1,38860	319	49	1,588837	525:53:00	60
l	35	1,35080	332	45	1,485066	545:05:00	68
l	21	1,29450	312	44	1,514399	517:11:00	60
l	28	1,33080	345	51	1,407948	539:35:00	65
l	8	0,79280	296	37	0,977608	268:22:00	34
l	15	1,54510	327	43	1,724653	509:36:00	68
l	42	1,04220	317	49	1,200009	453:56:00	59
l	11	1,41700	295	42	1,753237	443:19:00	58
l	39	1,11180	365	44	1,111800	408:40:00	46
		soma	soma	média	soma	soma	soma
Médio Curso		47,88040	8742	39,16667	48,019109	14482:01:00	6039
Longo Curso		29,56330	7604	46,36364	31,324901	11185:53:00	1366
Todos		77,44370	16346	42,6087	79,344010	25667:54:00	7405

Nota: Convém salientar que a recolha e introdução de dados para obtenção dos resultados pelo método indirecto SIEVERT (presentes na tabela 4), exigiu

um grande dispêndio de tempo, mesmo de uma pessoa com experiência ,neste caso concreto foram necessárias cerca de 7 semanas de trabalho (5 dias por semana a 8 horas por dia).

Tabela 5 - Exemplo da recolha de dados de um piloto referente ao número de horas voadas e total de voos.

Piloto		
partida	chegada	duração
14:45:00	22:15:00	7:30:00
3:40:00	10:55:00	7:15:00
14:00:00	21:30:00	7:30:00
23:00:00	30:00:00	7:00:00
14:00:00	21:30:00	7:30:00
23:00:00	30:00:00	7:00:00
22:25:00	32:25:00	10:00:00
19:20:00	29:05:00	9:45:00
14:40:00	24:20:00	9:40:00
1:50:00	11:05:00	9:15:00
8:45:00	18:25:00	9:40:00
20:00:00	29:15:00	9:15:00
14:05:00	24:20:00	10:15:00
1:50:00	11:25:00	9:35:00
8:55:00	18:35:00	9:40:00
20:05:00	29:20:00	9:15:00
8:35:00	18:50:00	10:15:00
1:50:00	11:25:00	9:35:00
8:35:00	18:50:00	10:15:00
21:45:00	31:50:00	10:05:00
11:40:00	12:35:00	0:55:00
7:00:00	9:40:00	2:40:00
10:40:00	12:55:00	2:15:00
8:45:00	18:30:00	9:45:00
20:40:00	30:05:00	9:25:00
9:55:00	19:43:00	9:48:00
20:00:00	28:50:00	8:50:00
9:57:00	20:20:00	10:23:00
21:15:00	30:30:00	9:15:00
9:47:00	20:05:00	10:18:00
...
...
		Total horas de voo -517:11:00
		Nº total de voos 60

Tabela 6 - Exemplo da recolha de dados de pilotos relativo aos totais de radiações, horas voadas e voos.

Pilotos	A (médio curso)	B (médio curso)	C (longo curso)	D (longo curso)
	0,06930	0,07950	0,12480	0,06280
	0,09280	0,09080	0,28960	0,19360
	0,05240	0,03340	0,37490	0,32080
	0,04940	0,04720	0,08510	0,12950
	0,05670	0,07030	0,23600	0,24100

Total radiação	2,34430	2,24010	1,29450	1,33080
Nº horas voadas	723:07:00	654:22:00	517:11:00	539:35:00
Nº voos	304	273	60	65

Tabela 7 - Resultados obtidos pelos três métodos

N.º Voo	Local Partida	Local chegada	Duração	Hora Partida(pt)	Hora Chegada(pt)	Radiação método directo (mSv)	Radiação SIEVERT (mSv)	Radiação CARI-6 (mSv)
TP275	LIS	MPM	10:00:00	23:18:00	9:18:00	0,018	0,02220	0,02749
TP278	JNB	LIS	9:45:00	19:27:00	5:12:00	0,017	0,02180	0,02914
TP834	LIS	FCO	2:22:00	7:28:00	9:50:00	0,005	0,00670	0,00722
TP837	FCO	LIS	2:38:00	11:20:00	13:58:00	0,005	0,00780	0,00812
TP576	LIS	FRA	2:18:00	14:24:00	16:42:00	0,005	0,00790	0,00940
TP579	FRA	LIS	2:36:00	18:19:00	20:55:00	0,007	0,01000	0,01158
TP1827	LIS	PDL(TER)	2:17:00	18:25:00	20:42:00	0,005	0,00590	0,00697
TP1828	PDL(TER)	LIS	1:54:00	22:03:00	23:57:00	0,004	0,00440	0,00587
TP257	LIS	LAD	7:19:00	22:59:00	6:18:00	0,013	0,01530	0,01949
TP250	LAD	LIS	7:10:00	1:22:00	8:32:00	0,013	0,01480	0,02052
TP806	LIS	MXP	2:03:00	8:26:00	10:29:00	0,004	0,00570	0,00716
TP803	MXP	LIS	2:31:00	11:41:00	14:12:00	0,005	0,00790	0,00774
TP440	LIS	ORY	2:11:00	15:38:00	17:49:00	0,004	0,00720	0,00571
TP445	ORY	LIS	1:46:00	18:53:00	20:39:00	0,004	0,00500	0,00612
TP354	LIS	LHR	2:07:00	7:55:00	10:02:00	0,004	0,00720	0,00647
TP582	LIS	WAW	3:27:00	11:24:00	14:51:00	0,008	0,01540	0,01516
TP583	WAW	LIS	3:34:00	16:16:00	19:50:00	0,011	0,01630	0,01862
TP198	GRU	LIS	9:22:00	20:54:00	6:16:00	0,019	0,02120	0,02820
TP500	LIS	ARN	3:32:00	9:30:00	13:02:00	0,012	0,01920	0,02137
TP501	ARN	LIS	3:51:00	14:47:00	18:38:00	0,011	0,02200	0,02035
TP566	LIS	HAM	2:52:00	13:21:00	16:13:00	0,007	0,01190	0,01240
TP1860	PDL	LIS	1:48:00	13:48:00	15:36:00	0,004	0,00400	0,00612
TP1861	LIS	PDL	2:06:00	10:31:00	12:37:00	0,005	0,00520	0,00731
TP710	LIS	MAD	0:30:00	7:27:00	7:57:00	0,001	0,00040	0,00088
TP725	MAD	LIS	0:39:00	9:27:00	10:06:00	0,001	0,00040	0,00122
TP506	LIS	OSL	3:38:00	9:45:00	13:23:00	0,011	0,02010	0,01954
TP507	OSL	LIS	3:44:00	14:40:00	18:24:00	0,011	0,02120	0,01950
TP856	LIS	BLQ	2:19:00	7:46:00	10:05:00	0,005	0,00690	0,00787
TP857	BLQ	LIS	2:34:00	11:14:00	13:48:00	0,006	0,00800	0,00902
TP140	CNF	LIS	8:31:00	3:03:00	11:34:00	0,019	0,01900	0,02805
TP945	GVE	LIS	2:11:00	18:13:00	20:24:00	0,004	0,00690	0,00666
TP103	LIS	EWB	7:51:00	12:23:00	20:14:00	0,025	0,05140	0,04919
TP104	EWB	LIS	4:46:00	6:00:00	10:46:00	0,016	0,02900	0,02895
TP175	LIS	GIG	9:53:00	15:20:00	1:13:00	0,020	0,02240	0,03061
TP176	GIG	LIS	8:44:00	3:44:00	12:28:00	0,017	0,01960	0,02540
TP157	LIS	SSA	8:08:00	16:42:00	0:50:00	0,016	0,01790	0,02506
TP158	SSA	LIS	7:48:00	3:00:00	10:48:00	0,015	0,01710	0,02361
TP218	SID	LIS	3:38:00	3:02:00	6:40:00	0,007	0,00760	0,01035
TP287lm	LIS	MPM	9:46:00	18:34:00	4:20:00	0,016	0,02190	0,02397
TP287mj	MPM	JNB	0:54:00	6:32:00	7:26:00	0,001	0,00040	0,00111
TP287jl	JNB	LIS	10:08:00	9:29:00	19:37:00	0,017	0,02310	0,02769
TP209	LIS	DKR	3:55:00	22:03:00	1:58:00	0,007	0,00830	0,01095
TP210	DKR	LIS	3:41:00	3:14:00	6:55:00	0,006	0,00750	0,00927
TP121	LIS	CCS	8:01:00	17:06:00	1:07:00	0,016	0,02300	0,02744
TP130	CCS	LIS	7:03:00	6:48:00	13:51:00	0,014	0,01970	0,02169

Os resultados da tabela 7 foram colhidos em alguns voos das rotas por nós escolhidas conforme se apresenta.

Esquemáticamente, a tabela tipificou o voo e os resultados obtidos pelos 3 métodos, directo e 2 indirectos (SIEVERT e CARI-6).

Nota-se que na maioria dos voos a dose recebida pelo método indirecto SIEVERT é a que mais se aproxima dos resultados obtidos pelo método directo, sendo que as rotas de médio curso e mais para norte, já são os resultados obtidos pelo método indirecto CARI-6, que mais se aproximam dos resultados obtidos pelo método directo.

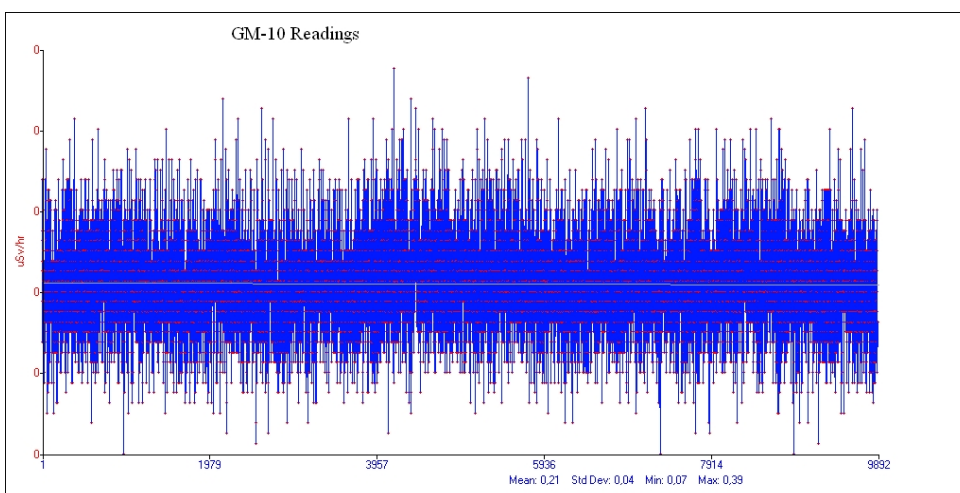


Figura 23 - Gráfico de valores de radiação recebida pela população de controlo.

Foi utilizado também o método directo para o registo da dose recebida pela a população de controlo e residente em Portugal com coordenadas geográficas 40°51'34"N,8°24'17"W, tendo por base um período de observação de 7 dias.

A média de idades da população de controlo é de 46 anos (valor arredondado às unidades).

Os resultados obtidos na população de controlo foram de uma média de 0,21 $\mu\text{Sv/h}$ com um desvio padrão de 0,04, tendo por mínimo 0,07 $\mu\text{Sv/h}$ e máximo de 0,39 $\mu\text{Sv/h}$, que pode ser observado na figura 23.

Dada a natureza dos destinos da companhia aérea, foram analisados os resultados de 7405 voos, separados em dois grupos - médio e longo curso.

Esta divisão deveu-se ao facto de se verificarem diferenças acentuadas, de doses recebidas, por voo, em cada um destes dois grupos.

A amostra da população de pilotos com uma média de idade de 43 anos, apresenta para o médio curso uma média de 39 anos, sendo que na parte da amostra relativa a pilotos de longo curso, é de 46 anos de idade.

O total de horas de voo analisadas foi de 25668, distribuídas por, 11186 para longo curso e 14482 para o médio curso.

A dose de radiação recebida durante o período de observação dos pilotos foi de 29,56 mSv para longo curso e 47,88 mSv para médio curso.

Conforme pode ser observado na figura 24, que representa a relação entre a dose de radiação recebida por cada piloto e o número de horas de exposição, a maioria dos pilotos de médio curso situa-se acima do valor máximo encontrado

para o longo curso, e por sua vez, alguns dos pilotos de longo curso encontram-se abaixo do mínimo dos pilotos de médio curso.

É de referir que durante o período em que decorreu a investigação, por motivos de doença, dois pilotos do longo curso e um de médio curso estiveram temporariamente inactivos, o que se veio a reflectir na respectiva dose recebida.

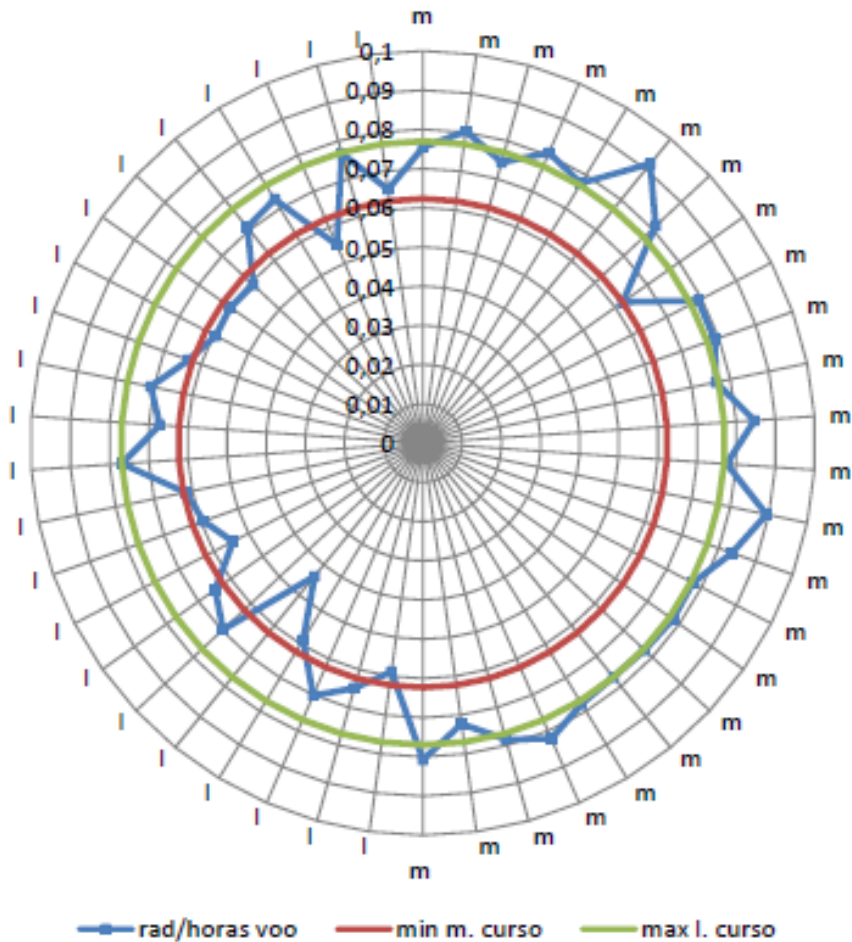


Figura 24 - Relação radiação/horas de voo.

Também na figura 25, pode ser analisada a dispersão entre pilotos de médio e longo curso em relação ao número de horas de voo expostos e a dose total de radiação recebida, sendo nítida a separação entre os dois grupos do estudo.

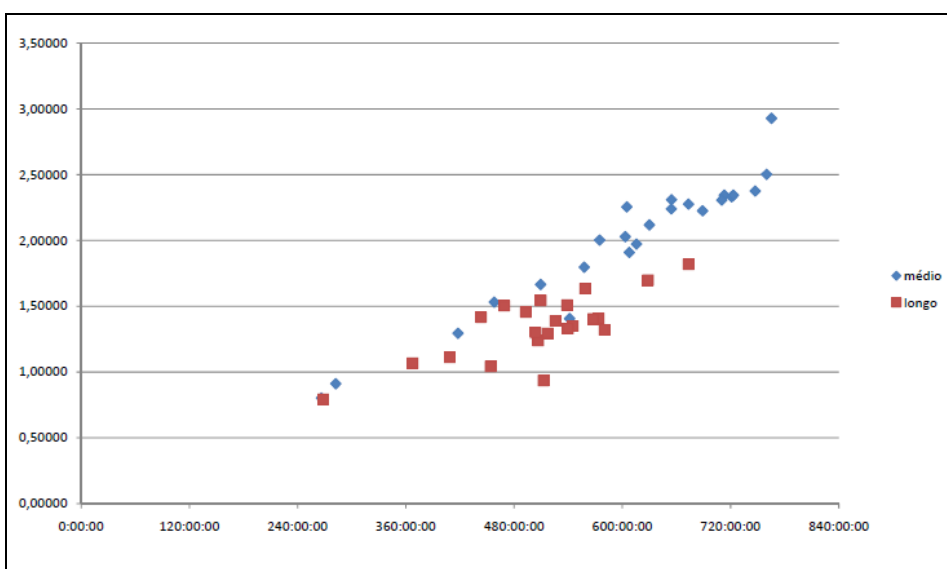


Figura 25 - Dispersão entre pilotos médio e longo curso.

Considerando que não foi uniforme o período de estudo de cada piloto, tornou-se necessário recorrer a uma estimativa para a exposição, tendo por base o período de um ano, cujos resultados são apresentados nas figuras 26 e 27, consoante se trate de longo ou médio curso.

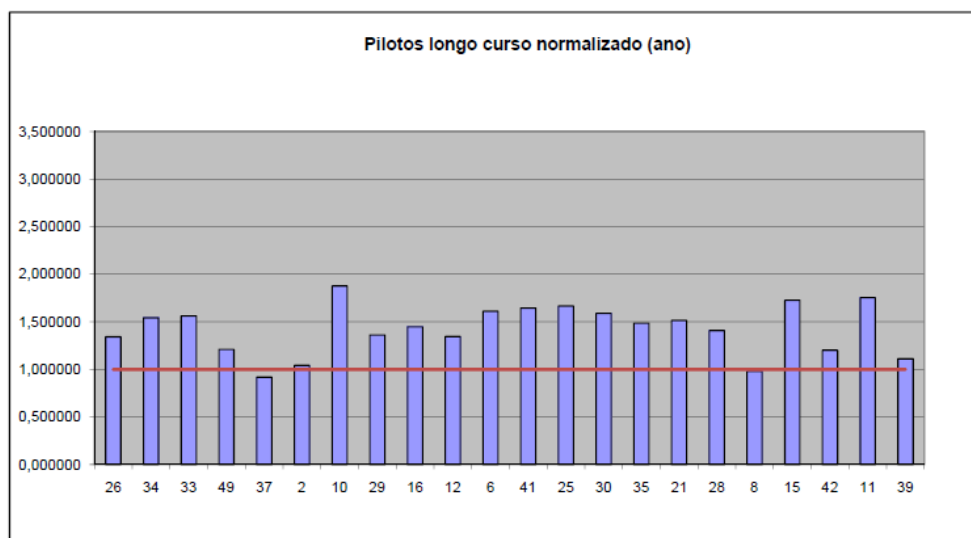


Figura 26 - Pilotos longo curso (normalizado ao ano).

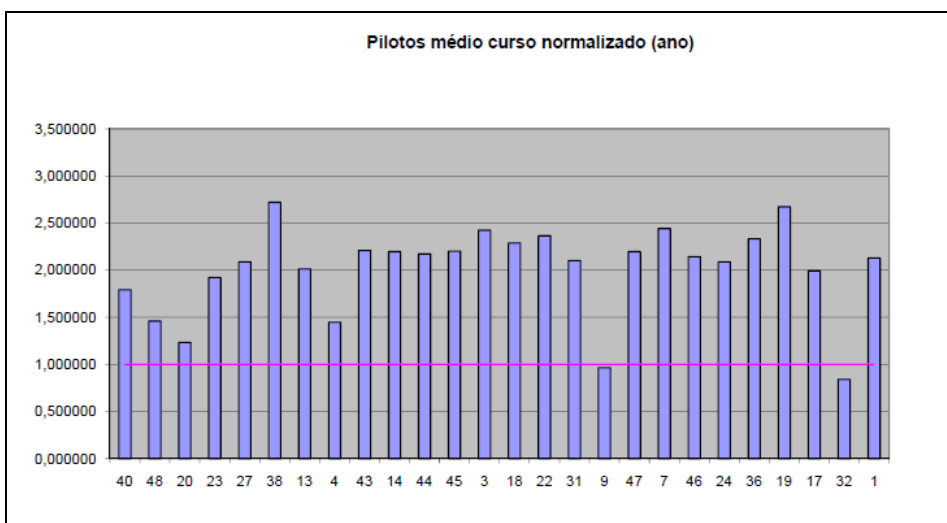


Figura 27 - Pilotos de médio curso (normalizado ao ano).

É notório, e como era esperado, que os voos consoante a sua latitude próxima da linha do equador recebem menor dose de radiação, especialmente verificada nos voos de longo curso, como demonstram as figuras 28 e 29, que se apresentam e com as seguintes coordenadas geográficas:

Portugal - LIS (Lisboa) - N 38° 46' 12" ; W 9° 07' 41"

Brasil - SSA (São Salvador) – S 12°54'39", W 38°19'51"

USA - EWR (Newark)– N 40°41'32", W 74°10'07"

Nestes voos de longo curso, as rotas são determinadas pelo plano de voo previamente estabelecido, levando em consideração as condições atmosféricas (direcção e intensidade do vento, turbulência e temperatura), as limitações em espaços aéreos restritos, reservados ou proibidos, bem como a proximidade de aeroportos alternativos de rota.

Neste caso, o voo de Lisboa (PT) para São Salvador (BR), e atingido o patamar de altitude que se manteve durante todo o voo com a excepção do período ascendente pós-descolagem e descendente ante-aterragem, a quantidade de radiações recebida fica entre os 2 e 3 $\mu\text{Sv/h}$.

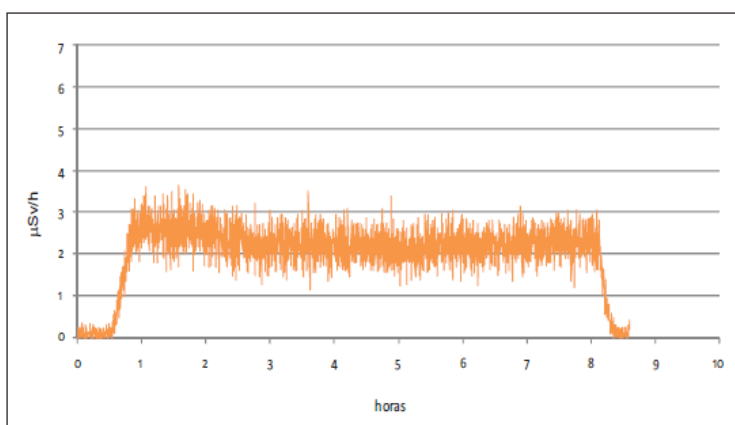


Figura 28 - Voo LIS-SSA.

Nota-se, por Lisboa (PT) se encontrar mais a norte, com as coordenadas atrás referidas, e o trajecto para sul incluir passagem pela linha do equador, observámos uma redução das radiações recebidas, que vão aumentando à medida que o voo se aproxima do destino. Esta inflexão é típica da passagem pela linha do equador.

A observação do voo Lisboa (PT) – Newark (US), apresenta uma maior quantidade de radiações recebidas no sentido do início para o fim do voo, mantidos que foram os mesmos patamares de altitude alcançados no período posterior ao ascendente pós-descolagem, e ao período anterior ao descendente, ante-aterragem. É de notar que o voo, se realiza de este para oeste e para norte, conforme se refere nas coordenadas apresentadas. Também aqui, se verifica o efeito da latitude na quantidade de radiação recebida.

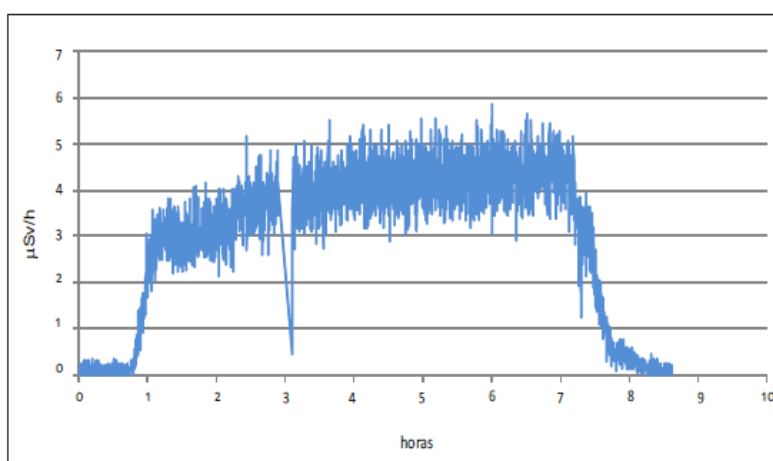


Figura 29 - Voo LIS-EWR.

Na sequência da anterior observação, e relacionando com os destinos à partida de Lisboa para Américas e África do Sul, Europa e África do Norte, é também de salientar que os pilotos de longo curso recebem anualmente em média uma menor dose de radiação, do que os pilotos de médio curso o que se pode observar na figura 30.

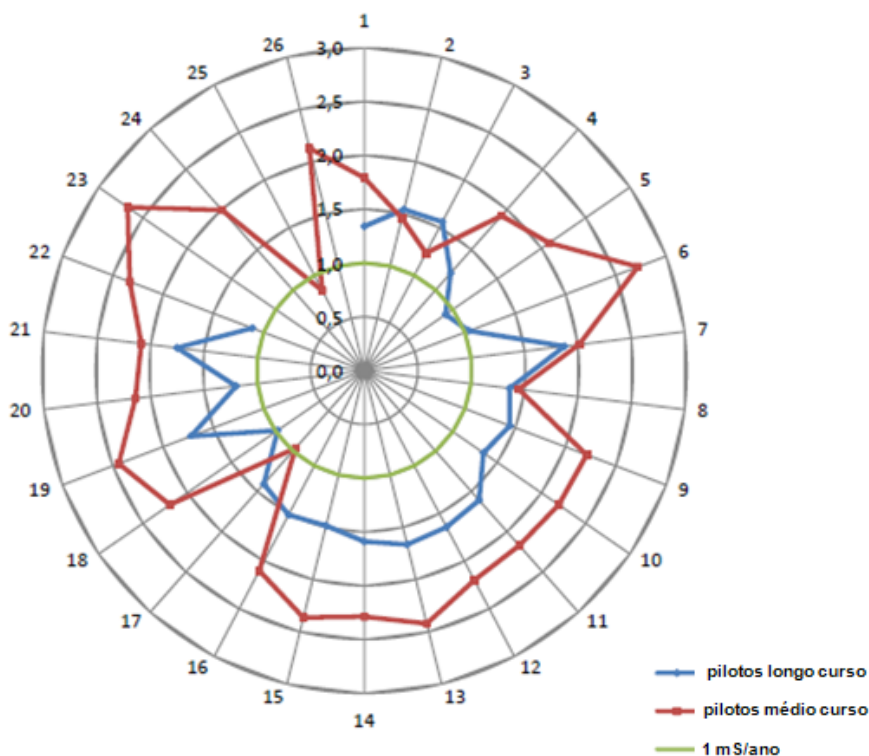


Figura 30 - Radiação total recebida em pilotos de médio e longo curso, e a referência de 1mSv/ano.

Nesta investigação e contrariamente ao que frequentemente é divulgado, os pilotos de longo curso recebem menos dose de radiação do que os de médio curso em relação ao mesmo período, sendo esta uma consequência, que tem por base, os destinos da companhia aérea “TAP Portugal”, e que, como já foi referido, as rotas de médio curso são, quase todas, à partida de Lisboa em direcção a destinos com uma latitude mais a norte, e as rotas de longo curso são para destinos a sul, com passagem pela linha do equador, com excepção do voo LIS-EWR.

Radiação cósmica recebida e efeitos nas amostras do kit biológico

Num estudo, onde se procura entender o efeito da radiação cósmica numa determinada população, pilotos de linha aérea, torna-se quase imperativo conhecer os efeitos deste tipo de radiação directamente na molécula de DNA.

Dado que ao longo dos últimos anos têm sido descritos alguns sistemas de protecção e reparação do DNA, procurou-se também utilizar neste estudo alguns dos enzimas responsáveis por esses mecanismos de protecção, a fim de compreender as alterações provocadas pela sua presença junto do DNA utilizado como modelo de teste.

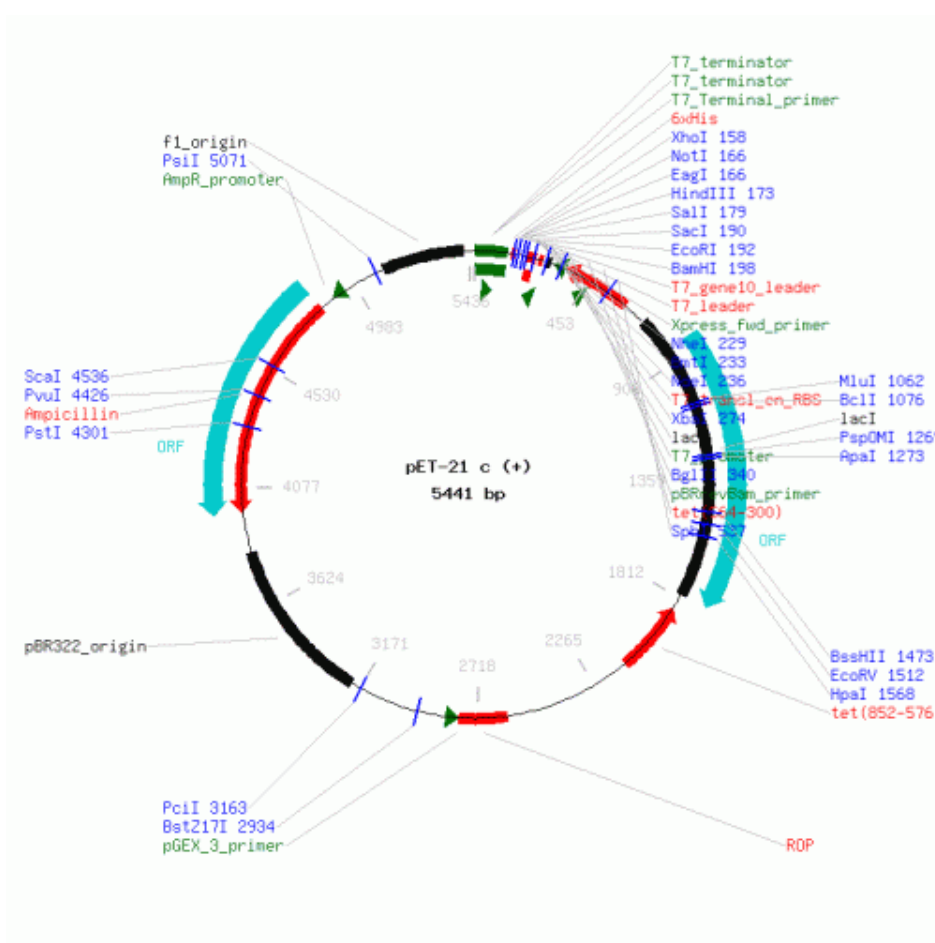


Figura 31 - Mapa de anotações do vector pET 21-C.

Dada a multiplicidade e as diversas combinações possíveis não só ao nível da sequência, mas também do tamanho (número de pares de bases) de uma molécula de DNA, foi escolhido como modelo para a realização deste estudo um vector comercial de sequência conhecida. O vector escolhido foi o pET 21-C (figura 31) que, para além de ter sido estudado individualmente, foi também testado em diversas condições, tais como, na presença de ferro (cloreto ferroso), Dps (*DNA-binding protein of starved cells*) e catalase. Estas últimas três condições simulam não só algumas situações celulares que podem tornar propícias as degradações do DNA, mas também a sua possível protecção recorrendo a alguns mecanismos de reparação/protecção.

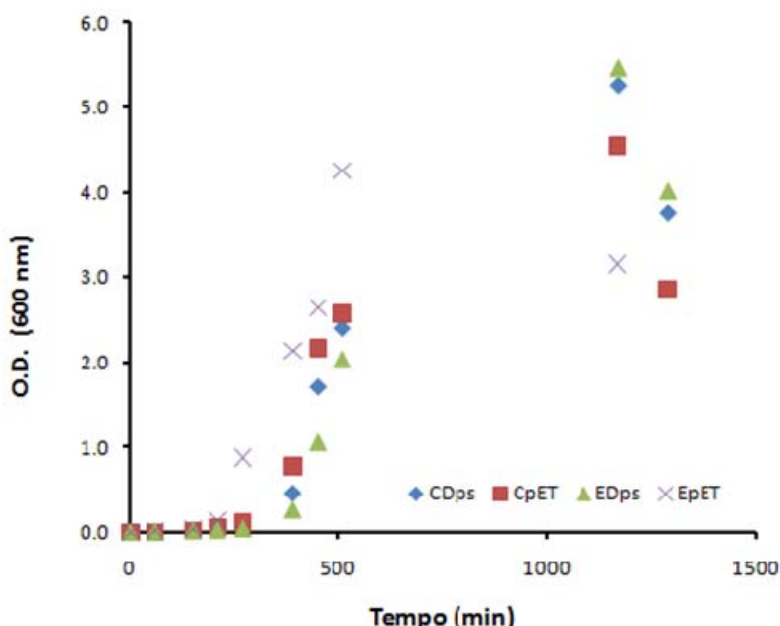


Figura 32 - Curva de crescimento exemplificativa das várias linhas bacterianas de *E. coli*.

Na figura 32 os losangos azuis representam a curva de crescimento das células de *E. coli*. de controlo, transformadas com o plasmídeo para a sobre-expressão de Dps, os quadrados vermelhos representam a curva de crescimento das células de *E. coli*. de controlo, transformadas com o plasmídeo pET-21-C, os triângulos verdes representam a curva de crescimento das células de *E. coli*. expostas, transformadas com o plasmídeo para a sobre-expressão de Dps, as cruzes cinzentas representam a curva de crescimento das células de *E. coli*. expostas, transformadas com o plasmídeo pET-21-C.

Através da análise da curva de crescimento dos vários tipos de células (controlo e expostas) é possível verificar que não existiu nenhuma alteração

entre qualquer uma das testadas. Tal significa que a exposição à radiação não causa qualquer efeito na taxa de crescimento quanto comparado com um conjunto de células que não tiveram expostas. Em segundo lugar é possível verificar também que a sobre-expressão de uma proteína reparadora/protectora de DNA (Dps) não causa qualquer diferença na taxa de crescimento, nas células expostas, quando comparada com as células que não contêm esse gene de sobre-expressão. Como tal, pode concluir-se que no caso de linhas celulares simples, como as estudadas, *E. coli*, não se verificam alterações, sendo que possíveis danos ao nível do material genético causados pela exposição à radiação cósmica é reparado pelos diversos sistemas de reparação celulares.

Uma das formas de verificar os danos provocados numa molécula de DNA, um plasmídeo de dupla cadeia neste caso, pode ser realizando uma electroforese em gel de agarose. Neste caso, distinguem-se as moléculas do DNA com base no seu tamanho e morfologia, ou seja, qualquer alteração que ocorra na dupla cadeia (cisão simples ou dupla) será facilmente observada no gel de agarose.

Desta forma, e nesta análise em particular, procurou-se observar diferenças entre as várias amostras de DNA estudadas para cada voo. Os resultados podem ser observados na tabela 8 e figura 33.

Tabela 8 -Resultados em voos seleccionados das amostras e controlo no kit biológico

Code name and date	Voo	Amostra				Controlo			
		DNA	DNA+Fe	DNA+Fe+Dps	DNA+Fe+Catalase	DNA	DNA+Fe	DNA+Fe+Dps	DNA+Fe+Catalase
	TP103	0	0	1	0	0	0	1	0
	TP834	0	1	1	1	0	1	1	1
	TP576	1	1	1	1	0	1	1	1
	TP1827	0	1	1	1	0	0	1	1
	TP506	0	1	1	1	0	1	1	1
	TP175	0	1	1	1	0	1	1	1
	TP257	0	1	1	1	0	1	1	1
	TP806	0	1	1	1	0	1	1	1
	TP440	0	1	1	1	0	1	1	1
	TP354	1	1	1	1	0	0	1	1
	TP582	0	1	1	1	0	0	1	1
	TP4191								
	TP856	0	1	1	1	0	1	1	1
	TP500	0	1	1	1	0	1	1	1
	TP566	0	1	1	1	0	1	1	1
	TP1860	0	0	1	1	0	0	1	1
	TP217								
	TP157	1	1	1	1	1	1	1	1
	TP710	1	1	1	1	1	1	1	1
	TP944	1	1	1	1	1	1	1	1
	TP141	1	1	1	1				
	TP278	1	1	1	1	1	1	1	1
	TP140	1	1	1	1	1	1	1	1
	TP209	1	1	1	1	1	1	1	1
	TP121								
	TP103								

Com base nos diversos ensaios realizados não foi possível verificar diferenças acentuadas entre as amostras e os controlos.

Esta metodologia propunha, *a priori*, que as diversas amostras de DNA analisadas, para um mesmo voo, apresentassem perfis diferentes consoante a

extensão do dano causado pela exposição à radiação cósmica nas referidas circunstâncias. Este ensaio tinha por comparação um conjunto semelhante de amostras que não tinham sido expostas à radiação cósmica e como tal serviria como ponto de partida para a avaliação do dano.

Este resultado não invalida porém um efeito da radiação em células humanas, já que, por um lado, a constituição das mesmas é substancialmente diferente, e por outro, numa classe como a de pilotos de linha aérea, a exposição é regular, ao contrário das células em estudo que só efectuaram um voo.

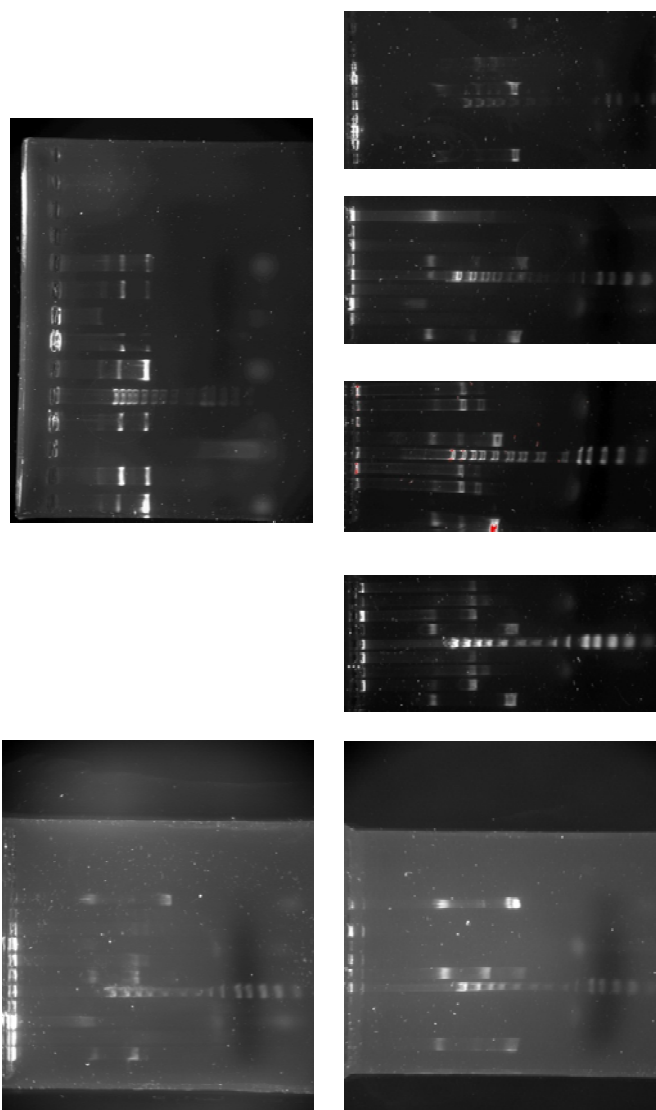


Figura 33 - Electroforese em gel de agarose, algumas amostras do kit biológico

As tabelas 9, 10 e 11 representam e sugerem respectivamente os dados brutos, os dados após normalização com a transformação Z (z-score) e a análise por componentes principais.

Esta transformação tem como objectivo transformar a “pool” de dados num agrupamento homogéneo em termos de amplitudes, de forma a que a magnitude de valores de uma variável, não veja inflacionado o seu peso no tratamento estatístico que se venha a utilizar posteriormente.

O agrupamento por “clusters” hierárquicos (HCA – hierarchical cluster analysis) agrupa os objectos (pilotos) em função das semelhanças das diferentes variáveis medidas para cada objecto. Essas semelhanças são traduzidas em distâncias entre os objectos, sendo que objectos próximos apresentam também semelhanças entre si. Esta análise é feita caso a caso sendo os objectos sucessivamente agrupados em função das suas semelhanças.

Por outro lado, a análise por componente principal, (PCA – principal component analysis) estabelece vectores (vectores próprios) que não são mais que combinações lineares das diferentes variáveis que definem os objectos. Assim, os diferentes objectos serão agrupados em função da menor dessemelhança entre si, ou seja, da menor variância. Desta maneira, sendo o universo concreto em estudo de variáveis constituído por 15 variáveis, o objectivo da PCA é reduzir o número de variáveis mantendo porém a capacidade classificativa da matriz de variáveis inalterada. Tal é necessário, pois, é impossível visualizar graficamente sistemas que sejam representáveis por mais de 3 dimensões num espaço X, Y, Z. Desta maneira quanto menor for o número de vectores (donde resultam os componentes principais) que possam explicar a classificação dos diferentes objectos, mais clarividente será a sua possível representação gráfica. Normalmente as 3 primeiras componentes principais são responsáveis por aproximadamente 50% da variância (ou mais) o que torna exequível uma representação bidimensional de fácil leitura de PCA1 vs PCA2 ou PCA1 vs PCA3.

Tabela 9 - Dados em bruto

Análises Raw																
Frota	Indiv	Ferr1	Crea1	Hemog1	Prot T1	Ferr2	Crea2	Hemog2	Prot T2	EPR 1%Red	EPR 2 %Red	OHG 1	OHG/Cre_1	OHG 2	OHG/Cre_2	Sievvert
l	zz0001	339,00	306,10	16,40	7,30	154,00	225,40	15,50	7,80	52,49	49,29	44,61	1,65	35,68	3,74	2,128
	zz0002	166,00	184,40	15,30	7,30	150,00	157,30	14,90	8,50	49,43	62,55	47,71	2,50	69,71	4,01	1,042
	zz0003	524,00	220,40	16,80	7,40	147,00	231,50	14,90	7,90	63,80	53,98	54,07	2,75	7,43	0,49	2,423
m	zz0004	110,00	259,00	14,70	7,20	151,00	99,70	15,70	8,00	62,28	62,25	43,87	1,91	37,70	1,87	1,446
	zz0005	183,00	32,70	14,90	6,90	152,00	89,50	16,70	8,00	60,85	47,96	1,44	0,50	126,11	4,54	1,920
	zz0006	230,00	141,00	15,80	7,50	154,00	75,10	15,40	7,50	45,07	70,95	6,56	0,37	34,40	3,54	1,610
l	zz0007	306,00	213,80	14,70	7,40	154,00	206,40	15,00	8,00	43,56	61,62	47,82	6,08	48,14	2,62	2,441
	zz0008	83,00	94,40	13,80	7,30	120,00	275,70	14,50	8,00	74,20	45,62	16,90	2,63	n.d	n.d	0,978
	zz0009	162,00	24,00	15,60	6,90	201,00	130,50	15,40	7,30	73,50	41,07	34,51	1,85	n.d	n.d	0,964
m	zz0010	215,00	325,30	14,50	7,00	148,00	287,50	13,90	7,40	70,82	65,73	23,86	1,37	31,88	2,46	1,876
	zz0011	102,00	93,00	14,60	8,10	144,00	80,30	14,60	8,20	92,03	75,13	29,81	1,52	17,72	0,61	1,753
	zz0012	159,00	193,00	14,60	7,30	154,00	87,30	13,90	7,10	81,82	83,03	16,28	0,60	45,78	2,29	1,345
m	zz0013	199,00	95,20	15,40	7,70	167,00	119,70	15,70	7,90	51,27	29,61	n.d	n.d	32,07	3,42	2,012
	zz0014	168,00	91,20	15,80	7,80	141,00	151,50	15,60	7,80	66,12	68,80	57,34	7,10	n.d	n.d	2,196
	zz0015	326,00	171,30	14,50	7,20	382,00	38,50	14,80	7,60	33,17	58,15	3,12	3,12	21,14	4,15	1,725
l	zz0016	208,00	166,00	16,00	7,80	146,00	199,10	15,10	7,50	43,08	63,81	44,13	3,00	16,74	1,19	1,447
	zz0017	258,00	210,30	14,90	8,10	n.d	n.d	n.d	n.d	61,33	n.d	40,58	3,16	n.d	n.d	1,993
	zz0018	188,00	249,70	15,00	7,60	151,00	n.d	14,40	7,80	50,31	61,54	28,96	1,31	n.d	n.d	2,288
m	zz0019	158,00	166,90	15,80	7,70	145,00	35,00	15,50	8,20	84,94	68,91	30,55	3,71	10,09	1,42	2,672
	zz0020	205,00	199,10	16,10	7,10	144,00	109,90	16,30	7,40	92,90	82,25	76,95	4,37	n.d	n.d	1,234
	zz0021	170,00	116,20	13,80	7,60	148,00	314,00	13,50	7,70	77,74	74,62	36,27	3,53	90,15	13,21	1,514
l	zz0022	136,00	191,40	15,00	8,00	142,00	275,20	15,10	8,40	69,63	53,25	14,29	0,84	76,82	4,33	2,365
	zz0023	412,00	185,90	15,60	7,70	146,00	131,10	15,20	8,10	64,77	69,80	16,99	1,16	21,94	1,25	1,923
	zz0024	211,00	145,90	14,80	6,50	155,00	161,40	15,30	7,20	80,23	71,87	14,53	1,13	33,30	5,01	2,087
m	zz0025	214,00	182,70	16,90	7,00	155,00	200,40	16,10	6,90	42,05	70,95	57,08	3,53	44,94	5,82	1,665
	zz0026	107,00	222,50	17,00	7,50	150,00	171,90	16,50	7,90	47,29	58,89	77,24	4,87	91,77	8,95	1,341
	zz0027	134,00	237,30	16,10	7,60	150,00	107,80	15,20	8,00	36,37	45,62	18,59	0,81	6,53	0,55	2,088
m	zz0028	246,00	170,40	15,70	7,30	151,00	99,00	16,00	7,80	34,40	53,45	19,15	1,27	43,46	1,78	1,408
	zz0029	363,00	171,90	15,30	7,90	148,00	169,80	15,80	8,40	38,10	60,04	49,42	3,03	6,56	0,47	1,361
	zz0030	220,00	179,30	16,50	8,00	154,00	115,80	16,50	8,40	74,45	70,95	103,16	7,77	33,09	5,46	1,589
l	zz0031	354,00	176,50	15,10	7,60	143,00	176,10	14,40	7,90	59,20	68,93	15,46	0,99	30,99	3,91	2,101
	zz0032	60,00	72,70	14,90	7,40	n.d	n.d	n.d	n.d	53,90	n.d	20,42	3,17	n.d	n.d	0,841
	zz0033	354,00	88,80	15,70	7,80	148,00	207,30	14,80	7,90	61,89	62,02	16,47	2,10	82,92	4,05	1,561
m	zz0034	226,00	259,70	16,00	7,50	146,00	135,30	15,60	7,30	51,90	63,43	26,04	1,13	28,42	1,12	1,542
	zz0035	224,00	197,50	16,30	7,40	152,00	146,20	15,10	7,20	35,13	49,09	25,23	1,44	n.d	n.d	1,485
	zz0036	187,00	257,00	16,20	7,10	152,00	272,90	16,20	7,30	26,55	59,53	16,40	1,09	13,04	1,49	2,332
l	zz0037	232,00	148,70	15,30	7,40	151,00	158,50	14,50	7,60	28,16	45,29	16,83	1,28	45,47	2,92	0,918
	zz0038	210,00	198,60	16,80	8,00	n.d	n.d	n.d	n.d	29,36	n.d	15,60	0,89	n.d	n.d	2,720
	zz0039	65,00	215,40	15,60	7,90	88,00	196,50	14,40	7,30	46,02	70,43	8,74	0,53	21,39	1,84	1,112
m	zz0040	132,00	121,60	16,10	8,30	150,00	77,10	14,30	7,70	51,38	62,25	42,91	5,95	12,63	5,04	1,791
	zz0041	482,00	133,90	17,30	7,30	520,00	106,10	16,90	7,20	63,45	53,33	71,56	4,70	83,42	5,55	1,644
	zz0042	118,00	230,80	13,00	7,70	148,00	172,90	12,70	7,70	28,69	52,65	32,51	1,59	73,04	5,11	1,200
m	zz0043	163,00	150,00	15,40	7,20	147,00	68,50	15,50	7,40	47,53	78,72	65,79	2,89	n.d	n.d	2,330
	zz0044	113,00	145,10	15,00	7,10	146,00	251,80	15,00	7,40	52,14	66,29	11,18	0,87	26,29	8,49	2,172
	zz0045	465,00	81,50	16,60	7,70	555,00	28,30	14,90	7,80	23,09	n.d	31,62	4,38	n.d	n.d	2,201
l	zz0046	188,00	210,30	15,00	7,50	148,00	57,60	14,80	7,70	30,96	71,53	30,92	1,66	49,30	2,02	2,143
	zz0047	240,00	225,50	17,70	7,40	263,00	107,50	17,10	7,70	50,34	60,93	45,44	2,28	30,68	2,00	1,200
	zz0048	260,00	221,30	15,90	7,80	152,00	330,60	15,70	8,20	25,61	72,40	18,73	8,82	100,67	8,72	1,459
m	zz0049	113,00	251,20	17,10	7,70	149,00	228,30	15,70	7,60	54,64	72,86	72,78	3,27	19,45	5,71	1,210
	LL0003	63,00	292,50	14,80	7,20	n.d	n.d	n.d	n.d	44,14	n.d	84,58	3,27	n.d	n.d	1,000
	LL0004	179,00	138,30	15,80	7,30	n.d	n.d	n.d	n.d	67,47	n.d	3,28	0,27	n.d	n.d	1,000
l	LL0005	169,00	226,20	13,10	7,10	n.d	n.d	n.d	n.d	50,12	n.d	22,85	1,14	n.d	n.d	1,000
	LL0006	94,00	259,60	16,10	7,40	n.d	n.d	n.d	n.d	48,58	n.d	18,59	0,81	n.d	n.d	1,000
	LL0007	721,00	173,20	17,30	7,50	n.d	n.d	n.d	n.d	75,16	n.d	29,31	1,91	n.d	n.d	1,000
m	LL0008	531,00	191,10	16,40	7,90	n.d	n.d	n.d	n.d	79,02	n.d	16,91	1,00	n.d	n.d	1,000
	LL0009	404,00	129,40	16,00	7,00	n.d	n.d	n.d	n.d	59,74	n.d	39,63	3,46	n.d	n.d	1,000
	LL0010	260,00	61,70	15,30	7,30	n.d	n.d	n.d	n.d	63,78	n.d	17,13	3,14	n.d	n.d	1,000
l	LL0011	102,00	95,00	13,10	7,40	n.d	n.d	n.d	n.d	67,61	n.d	15,63	1,86	n.d	n.d	1,000
	LL0012	264,00	222,70	14,40	7,40	n.d	n.d	n.d	n.d	82,35	n.d	40,46	2,05	n.d	n.d	1,000
	LL0013	99,00	204,10	14,80	7,60	n.d	n.d	n.d	n.d	46,10</						

Tabela 10 - Dados com transformação Z

Frota	Indiv	Ferr1	Crea1	Hemog1	Prot_T1	Ferr2	Crea2	Hemog2	Análises Zscore					OHG/Cre_1	OHG 2	OHG/Cre_2	severt
									Prot_T2	EPR 1 %Rec	EPR 2 %Rec	OHG 1					
I	zz0001	0,90	2,16	1,04	-0,48	-0,22	0,89	0,30	0,18	-0,11	-1,00	0,50	-0,43	-0,22	0,01	1,35	
m	zz0002	0,58	0,23	-0,08	-0,48	-0,26	0,00	-0,37	2,02	-0,29	0,09	0,63	0,07	0,93	0,11	-0,74	
m	zz0003	2,58	0,80	1,46	-0,22	-0,30	0,96	-0,37	0,44	0,56	-0,62	0,91	0,21	-1,17	-1,17	1,92	
m	zz0004	0,26	1,41	-0,70	-0,74	-0,25	-0,74	0,53	0,71	0,47	0,06	0,47	-0,28	-0,15	-0,67	0,04	
m	zz0005	0,67	-2,19	-0,49	-1,53	-0,24	-0,88	1,66	0,71	0,39	-1,11	-1,35	-1,10	2,84	0,30	0,95	
m	zz0006	0,93	-0,46	0,43	0,05	-0,22	-1,06	0,19	-0,60	-0,56	0,78	-1,13	-1,17	-0,26	-0,06	0,35	
I	zz0007	1,36	0,70	-0,70	-0,22	-0,22	0,64	-0,26	0,71	-0,65	0,01	0,64	2,14	0,20	-0,40	1,96	
I	zz0008	0,11	-1,21	-1,62	-0,48	-0,60	1,54	-0,83	0,71	1,18	-1,31	-0,69	0,14	-9999,00	-9999,00	-0,87	
m	zz0009	0,55	-2,33	0,22	-1,53	0,32	-0,34	0,19	-1,13	1,14	-1,68	0,07	-0,31	-9999,00	-9999,00	-0,89	
m	zz0010	0,85	2,47	-0,91	-1,27	-0,28	1,69	-1,50	-0,87	0,98	0,35	-0,39	-0,59	-0,35	-0,46	0,87	
I	zz0011	0,22	-1,23	-0,80	1,62	-0,33	-1,00	-0,71	1,23	2,25	1,13	-0,50	-0,50	-0,83	-1,13	0,63	
m	zz0012	0,54	0,36	-0,80	-0,48	-0,22	-0,90	-1,50	-1,65	1,64	1,78	-0,71	-1,04	0,12	-0,52	-0,16	
m	zz0013	0,76	-1,19	0,02	0,57	-0,07	-0,48	0,53	0,44	-0,19	-2,63	-9999,00	-9999,00	-0,34	-0,11	1,13	
m	zz0014	0,59	-1,26	0,43	0,83	-0,36	-0,07	0,42	0,18	0,70	0,60	1,05	2,73	-9999,00	-9999,00	1,48	
m	zz0015	1,47	0,02	-0,91	-0,74	2,36	-1,54	-0,49	-0,34	-0,11	-2,33	1,08	0,43	-0,71	0,16	0,58	
I	zz0016	0,81	-0,07	0,63	0,83	-0,31	0,54	-0,15	-0,60	-0,67	0,19	0,48	0,36	-0,86	-0,92	0,04	
m	zz0017	1,09	0,64	-0,49	1,62	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	0,42	-9999,00	0,33	0,45	-9999,00	-9999,00	1,09	
I	zz0018	0,70	1,27	-0,39	0,31	-0,25	-9999,00	-0,94	0,18	-0,24	0,01	-0,17	-0,63	-9999,00	-9999,00	1,66	
I	zz0019	0,53	-0,05	0,43	0,57	-0,32	-1,58	0,30	1,23	1,83	0,61	-0,10	0,77	-1,08	-0,84	2,40	
m	zz0020	0,79	0,46	0,74	-1,00	-0,33	-0,61	1,21	-0,87	2,30	1,71	1,89	1,15	-9999,00	-9999,00	-0,37	
I	zz0021	0,60	-0,86	-1,62	0,31	-0,28	2,03	-1,96	-0,08	1,40	1,08	0,14	0,66	1,62	3,46	0,17	
I	zz0022	0,41	0,34	-0,39	1,36	-0,35	1,53	-0,15	1,76	0,91	-0,68	-0,80	-0,90	1,17	0,22	1,81	
I	zz0023	1,95	0,25	0,22	0,57	-0,31	-0,34	-0,03	0,97	0,62	0,69	-0,68	-0,71	-0,68	-0,90	0,96	
m	zz0024	0,83	-0,39	-0,60	-2,58	-0,20	0,06	0,08	-1,39	1,54	0,86	-0,79	-0,73	-0,30	0,47	1,27	
I	zz0025	0,84	0,20	1,56	-1,27	-0,20	0,56	0,98	-2,18	-0,74	0,78	1,03	0,66	0,10	0,77	0,46	
m	zz0026	0,25	0,83	1,66	0,05	-0,26	0,19	1,43	0,44	-0,42	-0,21	1,90	1,44	1,68	1,91	-0,16	
m	zz0027	0,40	1,07	0,74	0,31	-0,26	-0,64	-0,03	0,71	-1,07	-1,31	-0,62	-0,92	-1,20	-1,15	1,28	
m	zz0028	1,02	0,00	0,33	-0,48	-0,25	-0,75	0,87	0,18	-1,19	-0,66	-0,59	-0,65	0,04	-0,70	-0,04	
m	zz0029	1,68	0,03	-0,08	1,10	-0,28	0,17	0,64	1,76	-0,97	-0,12	0,71	0,37	-1,20	-1,18	-0,13	
I	zz0030	0,88	0,15	1,15	1,36	-0,22	-0,53	1,43	1,76	1,20	0,78	3,01	3,12	-0,31	0,63	0,31	
I	zz0031	1,63	0,10	-0,29	0,31	-0,34	0,25	-0,94	0,44	0,29	0,61	-0,75	-0,81	-0,38	0,07	1,30	
m	zz0032	-0,02	-1,55	-0,49	-0,22	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-0,03	-9999,00	-0,54	0,45	-9999,00	-9999,00	-1,13	
m	zz0033	1,63	-1,29	0,33	0,83	-0,28	0,65	-0,49	0,44	0,45	0,04	-0,71	-0,17	1,38	0,12	0,26	
m	zz0034	0,91	1,43	0,63	0,05	-0,31	-0,28	0,42	-1,13	-0,15	0,16	-0,30	-0,73	-0,46	-0,95	0,22	
I	zz0035	0,90	0,44	0,94	-0,22	-0,24	-0,14	-0,15	-1,39	-1,15	-1,02	-0,33	-0,55	-9999,00	-9999,00	0,11	
I	zz0036	0,69	1,38	0,84	-1,00	-0,24	1,50	1,10	-1,13	-1,66	-0,16	-0,71	-0,75	-0,98	-0,81	1,75	
I	zz0037	0,94	-0,34	-0,08	-0,22	-0,25	0,02	-0,83	-0,34	-1,57	-1,33	-0,69	-0,64	0,11	-0,29	-0,98	
m	zz0038	0,82	0,45	1,46	1,36	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-1,49	-9999,00	-0,74	-0,87	-9999,00	-9999,00	2,50	
m	zz0039	0,01	0,72	0,22	1,10	-0,96	0,51	-0,94	-1,13	-0,50	0,74	-1,04	-1,08	-0,70	-0,68	-0,61	
m	zz0040	0,39	-0,77	0,74	2,15	-0,26	-1,04	-1,05	-0,08	-0,18	0,06	0,43	2,06	-1,00	0,48	0,70	
I	zz0041	2,34	-0,58	1,97	-0,48	3,93	-0,66	1,89	-1,39	0,54	-0,67	1,66	1,34	1,40	0,67	0,42	
m	zz0042	0,31	0,97	-2,44	0,57	-0,28	0,21	-2,86	-0,08	-1,53	-0,73	-0,02	-0,46	1,05	0,51	-0,44	
m	zz0043	0,56	-0,32	0,02	-0,74	-0,30	-1,15	0,30	-0,87	-0,41	1,42	1,41	0,29	-9999,00	-9999,00	1,74	
I	zz0044	0,28	-0,40	-0,39	-1,00	-0,31	1,23	-0,26	-0,87	-0,13	0,40	-0,93	-0,88	-0,54	1,74	1,44	
I	zz0045	2,25	-1,41	1,25	0,57	4,32	-1,67	-0,37	0,18	-1,87	-9999,00	-0,06	1,16	-9999,00	-9999,00	1,49	
I	zz0046	0,70	0,64	-0,39	0,05	-0,28	-1,29	-0,49	-0,08	-1,40	0,83	-0,09	-0,42	0,24	-0,62	1,38	
I	zz0047	0,99	0,88	2,38	-0,22	1,02	-0,64	2,11	-0,08	-0,24	-0,04	0,54	-0,07	-0,39	-0,62	-0,44	
I	zz0048	1,10	0,81	0,53	0,83	-0,24	2,25	0,53	1,23	-1,72	0,90	-0,61	3,73	1,98	1,82	0,06	
m	zz0049	0,28	1,29	1,76	0,57	-0,27	0,92	0,53	7,60	0,02	0,94	1,71	0,51	-0,77	0,73	-0,42	
m	LL0003	0,00	1,95	-0,60	-0,74	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-0,61	-9999,00	2,21	0,51	-9999,00	-9999,00	-0,82	
	LL0004	0,65	-0,51	0,43	-0,48	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	0,78	-9999,00	-1,27	-1,23	-9999,00	-9999,00	-0,82	
	LL0005	0,59	0,89	-2,34	-1,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-0,25	-9999,00	-0,43	-0,72	-9999,00	-9999,00	-0,82	
	LL0006	0,17	1,42	0,74	-0,22	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-0,35	-9999,00	-0,62	-0,92	-9999,00	-9999,00	-0,82	
	LL0007	3,68	0,05	1,97	0,05	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	1,24	-9999,00	-0,16	-0,28	-9999,00	-9999,00	-0,82	
	LL0008	2,61	0,33	1,04	1,10	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	1,47	-9999,00	-0,69	-0,81	-9999,00	-9999,00	-0,82	
	LL0009	1,91	-0,65	0,63	-1,27	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	0,32	-9999,00	0,29	0,62	-9999,00	-9999,00	-0,82	
	LL0010	1,10	-1,73	-0,08	-0,48	-9999,00	-9999,00	-9999,00	-9999,00	0,56							

Tabela 11 - Análise por componentes principais

	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Ferri	-0,161237	-0,128049	0,133930	-0,067999	0,128287	-0,678167
Creat	0,017483	-0,036347	-0,297254	-0,360839	-0,305929	-0,050510
Hemog1	-0,257251	-0,139599	-0,059351	-0,246075	-0,178380	-0,275913
Prot_T1	-0,061269	0,032352	-0,220127	-0,125851	0,616610	-0,139829
Ferr2	-0,202218	-0,116604	0,326512	-0,000951	0,143294	0,022395
Creaz	0,070452	0,304615	-0,083326	-0,292893	-0,181310	-0,270096
Hemog2	-0,257524	-0,089360	0,035567	-0,040363	-0,335176	0,212228
Prot_T2	-0,098865	0,120196	-0,262557	-0,110390	0,290380	0,197595
EPR 1 %Red	-0,010734	0,060653	-0,076333	0,567225	-0,096198	-0,286497
EPR 2 %Red	-0,017058	0,097604	-0,294264	0,304090	-0,163114	0,276235
OHG 1	-0,305155	0,034845	-0,157143	0,149204	-0,075110	0,228647
OHG/Cre_1	-0,286760	0,196038	-0,072476	0,086860	0,101197	0,114935
OHG 2	-0,032527	0,318308	0,293230	-0,083590	-0,033373	-0,026854
OHG/Cre_2	-0,075980	0,402630	0,156646	-0,032378	-0,042970	-0,050118

1 zz1L	-0,18067	-0,25756	-0,63112	-2,05009	-1,55149	-0,10909
2 zz2M	-0,14478	1,27943	-0,36026	-0,34775	0,07989	0,77262
3 zz3M	-0,98778	-1,74313	-1,32663	-0,85601	-0,28010	-2,04134
4 zz4M	0,34458	-0,82979	-1,02172	0,43133	-1,06142	1,31798
5 zz5M	0,75080	1,08970	4,03974	0,29858	-0,69415	1,11982
6 zz6M	1,26845	-1,34886	0,42683	0,18594	-0,13546	-0,57533
7 zz7L	-0,93323	1,03642	-0,74219	-0,52393	0,18151	0,15851
8 zz8L	2,39350	1,64253	0,54845	0,36027	0,55446	0,52897
9 zz9M	0,31870	-0,76091	2,74178	1,30227	-0,45353	0,80363
10 zz10M	2,71656	0,48549	-1,09286	-0,45922	-1,76776	-1,56602
11 zz11L	1,29906	-0,97414	-1,99293	2,95549	1,92287	-0,10131
12 zz12M	2,71906	-0,51310	-0,35753	2,45453	-0,60213	-1,41688
13 zz13M	-0,27539	-0,95436	1,46191	-0,77968	1,35942	1,57776
14 zz14M	-2,28590	1,18509	-0,99954	1,56655	0,56696	0,48100
15 zz15M	-1,37280	-1,98224	2,76849	0,19544	1,30818	1,49896
16 zz16L	-0,04373	-0,97148	-1,21754	-0,49085	0,18766	-0,24318
17 zz17M	-0,32600	0,24326	-0,77623	-0,02051	0,98906	-0,32100
18 zz18L	1,16210	-1,13521	-0,34172	0,19239	0,71840	0,51749
19 zz19L	-0,52714	-1,57201	-1,90131	2,08814	0,60744	0,34380
20 zz20M	-2,44646	0,16775	-1,45521	2,90758	-2,57105	-0,24137
21 zz21L	1,15835	6,59798	0,99203	1,10915	0,37424	-1,71762
22 zz22L	1,48200	2,08804	-0,15151	-1,28769	0,78867	-0,46647
23 zz23L	0,62246	-1,58565	-1,13923	0,25731	0,56820	-1,70210
24 zzM24	1,72302	0,09050	1,03851	1,94453	-2,48261	-0,90720
25 zz25L	-1,58662	0,57532	0,39135	-0,27575	-2,83460	-0,36004
26 zz26M	-3,45012	3,04602	0,23128	-1,11426	-1,63261	1,26855
27 zz27M	1,24176	-2,72088	-0,79581	-1,82798	0,39882	1,06311
28 zz28M	0,43162	-1,67158	0,75678	-1,10460	-0,35612	0,68554
29 zz29M	-0,99570	-1,55614	-1,82485	-0,83654	1,15935	0,18998
30 zz30L	-5,25237	1,41412	-2,66812	1,56038	0,16142	1,05175
31 zz31L	1,55275	-0,03520	-0,47475	0,02430	0,58174	-1,76341
32 zz32M	0,77809	0,46414	0,63385	0,77725	0,40660	0,99942
33 zz33M	0,51109	1,41108	1,08534	-0,18682	1,06994	-1,75076
34 zz34M	0,73843	-1,89744	-0,70519	-0,65260	-1,16327	-0,49511
35 zz35L	0,75395	-0,99537	1,03541	-1,60048	-0,54768	-0,06328
36 zz36L	1,03665	-1,49980	-0,43475	-2,51953	-2,43470	-0,18979
37 zz37L	1,73324	-0,65286	1,36083	-1,66752	0,68279	0,28459
38 zz38	0,44542	-0,75265	-0,19780	-2,07317	0,59366	-0,53284
39 zz39M	2,89860	-0,67133	-1,58369	-0,71257	-0,05238	-0,74004
40 zz40M	-1,00379	0,20298	-1,21290	0,71142	2,35466	0,42401
41 zz41L	-5,79799	-0,61573	4,30888	0,22274	-0,66532	-0,59929
42 zz42M	3,22865	1,99333	0,61227	-1,25103	1,83828	0,68179
43 zz43M	-0,54690	-2,38156	-1,70788	1,86788	0,92043	-0,20434
44 zz44L	2,02841	1,72647	0,73886	-0,22549	-1,35399	-0,56439
45 zz45L	-3,38925	-2,19906	3,48458	-0,40253	2,77407	-0,43929
46 zz46L	0,98821	-0,97324	-0,42400	-0,15883	0,20758	0,50751
47 zz47L	-2,66323	-2,34106	0,01829	-0,87164	-1,62853	0,31352
48 zz48L	-2,23192	5,34909	-0,12036	-2,61805	-0,11593	-0,81627
49 zz49M	-2,98817	2,02861	-4,75045	-1,40590	0,66895	1,30779
50 lL0003	0,70326	0,16515	-0,66551	-0,82704	-1,15564	1,24557
51 lL0004	-0,06457	0,05194	0,16230	0,69312	-0,37084	-0,00876
52 lL0005	1,18863	0,43498	0,07336	0,30488	-0,55566	1,14239
53 lL0006	0,02881	-0,07305	-0,70034	-0,90939	-0,87849	0,56850
54 lL0007	-1,82658	-1,01226	0,38349	-0,08169	0,05326	-3,68409
55 lL0008	-1,16569	-0,49558	-0,24976	0,17640	0,61399	-2,60479
56 lL0009	-0,52166	-0,38694	0,79160	0,36897	-0,59731	-1,05468
57 lL0010	-0,04936	0,08134	0,81602	1,14828	0,25390	-0,18246
58 lL0011	1,17216	0,76963	0,46466	1,77364	0,49574	1,20012
59 lL0012	0,34447	0,23597	-0,29873	1,02976	-0,36204	-0,44054
60 lL0013	0,48817	0,24528	-0,38010	-0,34324	0,05773	0,93392
61 lL0014	-0,17310	0,05722	0,54951	1,03062	1,05172	-0,91402
62 lL0015	1,04298	0,54731	0,32796	0,11717	0,57529	1,95173
63 lL0016	-0,11086	-0,22457	0,03670	-1,73995	0,56856	0,64534
64 lL0017	-0,08698	-0,38813	0,68408	-1,45669	-0,05121	0,22463
65 lL0018	-0,04041	0,08824	-0,79053	-0,41524	0,30100	0,15413
66 lL0019	0,27646	0,21546	0,24613	0,71648	-0,20864	0,52675
67 lL0020	-0,03032	0,15378	-0,70715	0,12477	0,66361	-0,34334
68 lL0021	0,38951	0,24444	0,59323	0,75514	-0,39749	1,04655
69 lL0022	-0,51448	-0,35337	0,17602	-0,00660	-0,38406	-1,17957
70 lL0023	-0,05014	0,09940	-0,22926	0,66888	-0,20220	-0,24874
71 lL0024	1,13958	0,51040	0,79121	1,45855	-1,26799	1,55162
72 lL0025	-0,37736	0,02752	-0,36367	-0,08490	1,10965	-0,27831
73 lL0026	-0,17300	0,02379	0,40904	-0,14582	1,10395	0,33875
74 lL0027	0,41797	0,17828	0,67498	1,16192	-0,76076	0,28589
75 lL0028	0,33265	0,00966	-0,10567	-0,59531	-1,29074	1,21086
76 lL0029	-0,60491	-0,53540	0,41703	-0,33842	-0,94059	-1,16968
77 lL0030	0,57566	0,23901	0,64007	0,62744	-0,24284	0,77766
78 lL0031	-0,65062	-0,38035	0,40144	-0,32596	0,27485	-0,91046
79 lL0032	0,21743	0,22840	-1,25046	-0,89010	1,27318	0,09832
80 lL0033	0,88307	0,49221	-0,41681	0,23924	0,13593	1,10339
81 lL0034	-0,17518	0,06702	0,12310	0,20019	1,67870	-0,63555
82 lL0035	0,08244	0,22524	0,32290	0,38953	2,19157	-0,36293
83 lL0036	0,17766	-0,07212	0,85868	0,20607	0,19105	-0,29066
84 lL0037	0,25878	0,00508	-0,05286	-0,12316	-0,68051	0,20729

Distinção entre tipos de pilotos (médio curso versus longo curso).

Num passo adicional, foi efectuada uma análise considerando a possibilidade de distinção de duas categorias de pilotos.

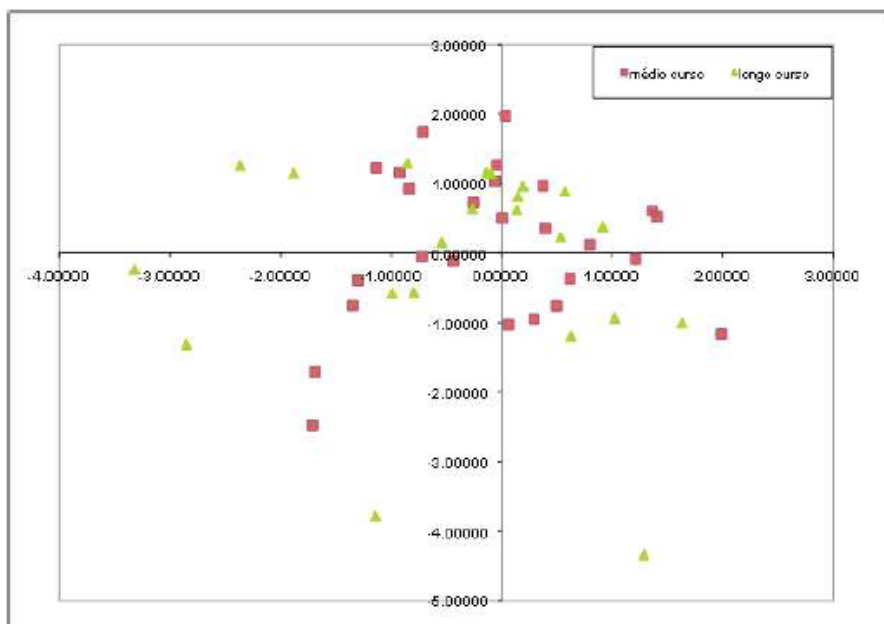


Figura 35 - Correlação entre pilotos de médio e longo curso entre componentes principais.

Na figura 35, o gráfico mostra as correlações existentes entre a primeira e segundas componentes principais para pilotos de médio e longo curso. Nesta análise os indivíduos são agrupados em função da sua menor dissimilaridade.

Como se observa, a distribuição dos diferentes objectos no espaço bidimensional da primeira e segunda componentes principais (PC1 E PC2) é bastante aleatória. No seu conjunto, PC1 e PC2 correspondem a 30% da variabilidade do sistema. Esta análise exploratória, que evidencia a impossibilidade de separar estes dois tipos de pilotos, sugere no entanto que do ponto de vista das variáveis em estudo os pilotos são submetidos a efeitos oxidativos comparáveis no seu efeito final.

Outro factor importante da análise efectuada é a interpretação da correlação entre as diferentes variáveis no espaço bidimensional PC1/PC2. Como

observado na figura 36, verifica-se claramente que todas as replicadas de análise (feitas nos dois períodos de tempo considerados neste estudo) estão correlacionadas, à excepção dos valores de creatininuria e de 8OHG.

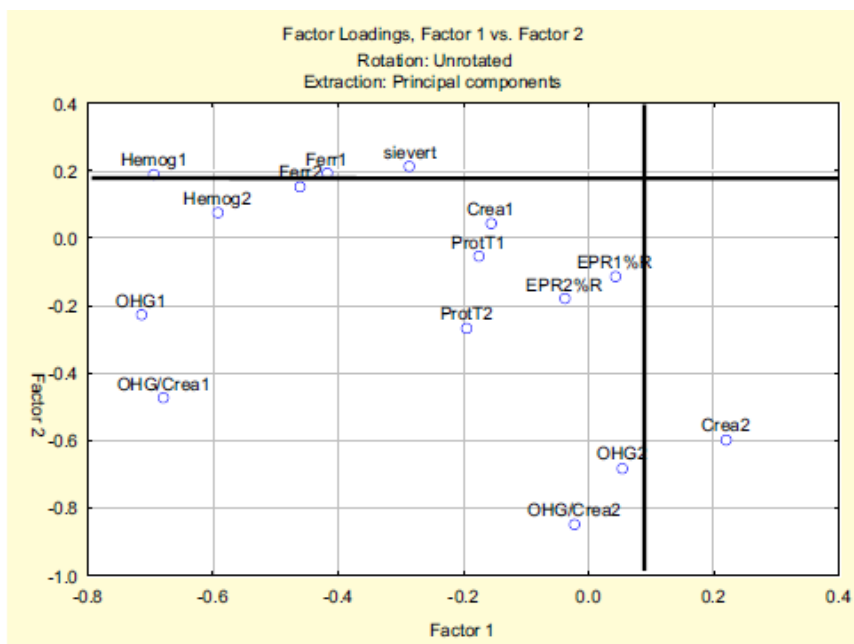


Figura 36 - Correlação entre as diferentes variáveis no espaço bidimensional

Estas variáveis, considerados que foram os dois períodos de colheita dos produtos biológicos para os pilotos, com um espaço temporal de cerca de um ano, correlacionam-se, pese embora o desvio dos valores de creatininuria e 8OHG, interpretado como correlação negativa na razão 8OHG/creatininuria, o que se pode entender com base no facto deste metabolito ser proveniente da reparação de ácidos nucleicos.

V. Discussão

Condicionantes do estudo

A concretização da investigação proposta nem sempre foi fácil. No trajecto percorrido até à realização deste trabalho, houve limitações de variada ordem e natureza que impuseram o seu ritmo. A saber:

- À priori foi necessário obter um cartão de acesso a áreas restritas do aeroporto de Lisboa onde se veio a proceder à colheita dos produtos biológicos aos pilotos. Para tal, foi obrigatório cumprir um conjunto de normas e regulamentos, donde destacamos um inquérito pessoal de acordo com o anexo do Regulamento (CE) 2320/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de Dezembro de 2002, "todo o pessoal que deva ter acesso às zonas restritas de segurança será sujeito a um inquérito pessoal sobre os últimos 5 anos no mínimo" e ainda a frequência de um curso de segurança com a duração de um dia (09/17horas), ministrado nas instalações deste aeroporto, por pessoal habilitado para o efeito e seguindo as normas internas de segurança;
- De início, tínhamos apontado para uma população entre os 35 e 60 anos. No decurso de algumas reuniões com a direcção da APPLA foi sugerido que a idade se alargasse para o intervalo dos 30 a 60 anos, pois tinha ocorrido um recrutamento recente de pilotos mais jovens.
- Disponibilidade das populações de pilotos e de controlo num número significativo de indivíduos, com maior relevância para a população dos pilotos;
- Obtenção dos dados relativos à exposição à radiação através de medição directa, em número alargado;
- Controlo a nível individual, com desenvolvimento de testes clínicos simples e fiáveis a nível de implementação e execução;
- Previsão da possibilidade de que tanto a radiação ionizante como a não ionizante (campos magnéticos), possa aumentar os riscos em outras populações com exposições ocupacionais;
- Dificuldades no diagnóstico de problema, uma vez que os efeitos imediatos detectados durante a vida útil das tripulações são relativamente baixos;
- A própria medição da radiação cósmica não tem ainda uma base sólida, pelo que se podem verificar alguns erros, ou valores subestimados;
- Qualquer relação que se queira efectuar entre exposição a radiação cósmica e incidência de cancro tem de ter por base um conjunto de marcadores biológicos que revelem essa mesma exposição;

- Transportando, mesmo credenciados conforme o anexo IV, por vezes, em alguns aeroportos, foi impossível evitar a abertura do kit biológico e consequente exposição a radiações ionizantes (por ser “obrigatória” a passagem nos detectores de metais, tornando assim inviável a sua utilização para a investigação).

Metodologia

Por se tratar de um estudo para investigar os efeitos das radiações cósmicas nos humanos, tornou-se obviamente necessário recorrer a pilotos de linha aérea, pois sabe-se, que a maiores altitudes o efeito protector é menor levando a exposição a maiores valores de radiações cósmicas.

De facto para o universo de pilotos afiliados da APPLA só foram distribuídos aleatoriamente 350 questionários, tendo sido recebidos e aceites 182, o que para as condicionantes induzidas pelo tipo de actividade profissional se pode considerar muito bom, isto é mais de 50%. Convém dizer, que introduzidos que foram os critérios de exclusão, se foi reduzindo a dimensão desta população, que culminou com uma amostra definitiva de 49 pilotos e que se deveu essencialmente à impossibilidade de colheita dos produtos biológicos dentro do prazo previamente estabelecido. Mesmo assim, ficamos satisfeitos com a dimensão da amostra, pois também foi necessário equacionar a disponibilidade de recursos financeiros e humanos.

Sobre a amostra da população de controlo é para nós a desejável, tendo em conta o já acima referido sobre as limitações, quer financeiras quer de recursos humanos, sendo que esta se manteve estável durante o período de observação.

Sobre o questionário, recolhemos informação que para este estudo se tornou suplementar, sobretudo dados antropométricos e hábitos pessoais, que mereceram toda a nossa atenção.

A recolha dos produtos biológicos, tanto nas instalações aeroportuárias como nas da APPLA, tiveram os procedimentos adequados para tal, sendo de referir que nenhuma destas colheitas se perdeu até serem entregues nos respectivos laboratórios, onde posteriormente se procedeu à sua análise, e que para além de se apresentarem com código por piloto também exibiam um código de barras adicional em cada recipiente, evitando-se assim extravios.

Procurou-se no mercado um contador Geiger cujo espectro de detecção fosse adequado para o efeito pretendido, tendo-se optado assim pelo GM-10, Black Cat Systems, que findo o estudo pode afirmar-se ter sido uma boa opção.

Quanto à caixa metálica para transporte das amostras, foi idealizada, desenhada e construída com regras que satisfaziam em termos de dimensões a sua utilização no cockpit do avião, bem como o reforço em chumbo para proteger as amostras fora do período obrigatório de exposição.

Sobre a escolha dos elementos que constituem o estudo consideramos os seguintes itens:

a) Creatinina/8-hidroxi-2'desoxiguanina

A determinação da quantidade de creatinina na urina dos elementos representantes das populações em estudos serviu para normalizar os valores de 8-hidroxi-2'desoxiguanina, ou seja, uma vez que estes últimos ilustram um processo de reparação de danos provocados ao nível molecular, é necessário utilizar os valores de creatinina para que os resultados obtidos possam ser comparáveis entre indivíduos, considerando-se assim o nosso objectivo atingido.

b) Bitirosinas

Apesar de a metodologia utilizada não ter sido a adequada e, por esse motivo, não ter sido possível encontrar um conjunto de resultados significativos, a quantificação deste metabolito tinha como objectivo avaliar a quantidade de danos produzidos ao nível proteico, dado que é conhecido que proteínas que contêm na sua estrutura primária resíduos de tirosina, podem formar, quando expostas a alguns agentes (nomeadamente radiação), ligações entre dois desses resíduos de tirosina (bitirosinas). Assim, este metabolito pode ser utilizado como marcador dos danos causados em proteínas.

A aproximação experimental não consideramos ter sido a apropriada para obter os resultados que esperávamos (a quantificação de metabolito), uma vez que não foi suficientemente sensível para avaliar os danos provocados pela exposição às radiações cósmicas em proteínas.

Também deve ser realçado que das análises propostas inicialmente e utilizadas para este estudo, apenas a quantificação de bitirosinas não foi realizada uma vez que a quantidade deste metabolito nas amostras recolhidas (sangue), estava abaixo dos limites de detecção nos equipamentos disponíveis.

c) Hemoglobina/Proteínas totais/Ferritina

É sabido que para além de uma “acção directa”, em que a energia da radiação é suficiente para causar danos ao nível das estruturas celulares/moleculares, parte dos danos provenientes da exposição à radiação são causados por uma “acção indirecta”, isto é, a energia da radiação provoca a formação de espécies radiculares que por sua vez provocam danos nas diferentes estruturas celulares. A quantificação de algumas proteínas como a ferritina ou a

hemoglobina ajudam a perceber (através do metabolismo do ferro por exemplo) se existem ou não condições, ou se estas estão favorecidas, para o aparecimento de danos ao nível celular. Mais uma vez, aqui é necessário estabelecer uma condição que permita comparar resultados entre os vários indivíduos do estudo e, por essa razão, são quantificadas também as proteínas totais a fim de se poder normalizar as restantes análises.

d) EPR

O ensaio escolhido tem por base a capacidade de resposta à exposição em condições adversas, do sangue, sendo esta uma forma de avaliar a capacidade antioxidante da amostra e que permite a quantificação e posterior comparação dos resultados com o grupo de controlo.

e) Medição das radiações

A avaliação da exposição individual pode ser feita por métodos directos e indirectos.

Os métodos indirectos calculam as estimativas de dose para as rotas, usando um programa informático, por vezes com informação adicional, fornecida pelo "staff" e observando algumas condições como a data e local de partida, o perfil do voo na fase ascendente, altitude de cruzeiro e fase descendente, bem como o destino.

Há vários programas de fácil utilização e que foram validados.

Assim, temos um primeiro programa da responsabilidade da Civil Aerospace Medical Institut, americana, com uma versão actual denominada CARI-6M, disponível para download na Internet.

Um outro, conhecido por EPCARD (European Package for the Calculation of Aviation Route Doses) com a sua mais recente versão EPCARD 2.3 de (Fevereiro de 2002), disponível a pedido, uma das razões tidas em conta e pela qual não foi por nós utilizado.

Um terceiro programa conhecido por SIEVERT, também disponível na Internet.

Todos estes programas requerem uma actualização regular tendo em conta os efeitos da modulação solar e as mudanças nas condições dos campos magnéticos, reflectindo assim um maior rigor na determinação das doses de radiações cósmicas recebidas.

Neste estudo foram contemplados pilotos de linha aérea de longo e médio curso, pertencentes à transportadora aérea "TAP Portugal" na tentativa de compreender a influência da exposição às radiações cósmicas. Embora fosse desejável efectuar medidas directas de radiação para a totalidade dos voos efectuado pelos pilotos contemplados no estudo, tal não foi possível. Assim

optou-se por uma metodologia que compreende a utilização do método SIEVERT para estimativa dos valores de radiação a que os pilotos estiveram expostos durante o período de tempo de duração do estudo. Os somatórios dos valores revelam essencialmente duas realidades. É notório que alguns pilotos obtêm valores de exposição (normalizados ao ano) superiores a 1 mSv, o que por si só poderia levar a atenção particular. Por outro lado, é notório que essa tendência é maior para pilotos de médio curso. Este facto é bastante importante, pois existe a convicção que pilotos de longo curso estão mais expostos à radiação do que pilotos de médio curso. No entanto essa exposição não depende do tempo de duração do voo mas, como seria espectável, de outros factores como a latitude das rotas em causa. Para o caso da TAP Portugal é fácil perceber que as rotas utilizadas no médio curso cruzam latitudes para as quais os pilotos estão mais expostos à radiação.

Contrariamente, os voos de longo curso são maioritariamente executados em rotas em torno de latitudes equatoriais o que faz com que os valores de radiação estimada sejam inferiores. Para compreendermos a independência do tempo de voo é também necessário perceber que este parâmetro, ainda que relevante numa comparação directa entre uma rota de longo e médio curso, nada significa quando comparamos pilotos numa base de horas de voo anual pois neste caso ambos os tipos de piloto terão valores semelhantes de horas de voo.

Tendo em conta que as observações acima referidas foram realizadas com base em estimativa de exposição, devemos então introduzir um método de controlo e verificação baseado em medições directas. A utilização de um medidor TEPC em voos seleccionados, e representativos dos voos efectuados pelos pilotos incluídos neste estudo, veio provar que os valores estimados estão próximos dos medidos. Estas medições foram efectuadas no cockpit e em contínuo (de acordo com o descrito nas metodologias experimentais), possibilitando portanto uma comparação directa com os valores estimados pelo método Sievert. Não deixa de ser curioso verificar que é discernível o aumento da exposição com a altitude e a sua dependência da latitude.

f) Determinação de danos biológicos

Na tentativa de aumentar o número de dados disponíveis para compreender o efeito da radiação em sistemas biológicos foi utilizado um kit biológico cujo conteúdo permitiria aferir da sensibilidade de macroméculas biológicas (nomeadamente DNA) à exposição a radiação num cockpit. Neste caso os resultados não foram concludentes. Com efeito as alterações observadas ocorrem sem tendência e de igual forma em amostras e controlos, levando a pensar que a estabilidade do DNA não é alterada pela exposição adicional às radiações. No entanto podemos tecer várias considerações a este respeito.

Por exemplo uma possível explicação é a de o controlo ter sido efectuado de forma inadequada. Embora seja pouco provável que o tipo de alterações sofridas pelas amostras expostas no cockpit durante uma viagem aérea possam ser equivalentes às resultantes por exposição no laboratório (e portanto ao nível do mar), teria sido mais correcto sujeitar amostra e controlo ao voo, embora o controlo permanecesse fechada. Porém, esta situação não garantia que certas condições experimentais (como por exemplo pressão e temperatura) fossem coincidentes entre amostra e controlo. Uma outra possível explicação é a de a molécula de DNA (neste caso DNA plasmídico circular) obter uma estabilidade acrescida quando mantida numa solução tampão por oposição à sua reactividade no meio intracelular. Com efeito na ausência de agentes potenciadores de dano (diferentes átomos pesados, tióis, etc) é possível que os danos observados sejam menores do que numa situação intracelular onde uma matriz, necessariamente complexa, pode levar a um aumento dos danos e a diferentes tipos de danos (muito provavelmente através de reacções de oxidação-redução entre bases alvo do DNA e espécies activas resultantes da exposição de outras moléculas intracelulares à radiação). Existe ainda a possibilidade de os testes efectuados para controlar as modificações no DNA serem demasiado grosseiros para detectar alguns tipos de modificações. Embora os testes electroforéticos sejam muito apropriados à detecção de diferentes formas conformacionais da molécula de DNA, ou mesmo à sua degradação, o mesmo já não poderemos dizer da possibilidade de alteração da natureza química de um base que, implicando uma lesão conducente a mutação, poderá permanecer despercebida.

Também aqui, se poderia alterar o protocolo experimental por forma a utilizar estirpes bacterianas sensíveis à radiação, procurando maximizar o limite de detecção de anomalias celulares (possibilitando visualização de diferenças nas UFCs).

g) Analise multivariável

No que diz respeito às diferentes análises realizadas estamos numa situação em que uma observação cuidada revela diferenças entre pilotos e população controlo. Assim, ter-se-á que tomar em conta as variáveis 8OHG, ferritina, creatininuria, proteínas totais, hemoglobina e capacidade antioxidante. Neste caso, e por si só, a análise dos dados mostra apenas pequenas variações entre pilotos e amostra controlo. Os valores mais baixos de ferritina podem ser interpretados como uma falha na capacidade de armazenar ferro ferroso, o que por sua vez potencia a formação com ROS/RNS.

No entanto nenhum resultado *per si* é suficientemente explícito e permite tirar conclusões definitivas. Recorreu-se a um software de análise estatística multivariável: a escolha recaiu no programa SIMC P+ (Umetrics) cuja

simplicidade de utilização e capacidade de processamento são adequadas à análise pretendida. Pretendia-se com esta análise procurar conjuntos (*clusters* hierárquicos) nos dados obtidos, construir árvores PLS (*partial least squares*) e procurar semelhanças/dissemelhanças entre as amostras populacionais. Utilizando as variáveis acima descritas foi possível discriminar entre pilotos e amostra de controlo, o que revela a existência de uma correlação entre as variáveis em estudo (8OHG, creatininúria, ferritina, hemoglobina, proteínas séricas totais, capacidade antioxidante).

Resultados

Para melhor compreensão dos resultados por nós conseguidos quanto às radiações cósmicas recebidas convém antecipadamente tecer algumas considerações.

As partículas dos raios cósmicos são carregadas electricamente e por isso são deflectidas pelo campo magnético terrestre, sendo por esta razão que as doses das radiações cósmicas são maiores a mais altas latitudes e nos pólos da terra e ainda segundo algumas fontes 20% menos do que a média durante a máxima actividade solar, e cerca de 20% mais, durante a mínima actividade solar.

As radiações cósmicas são um fenómeno natural ao qual todos estamos sujeitos.

O aumento das radiações cósmicas em altitudes crescentes é um fenómeno bem conhecido sabendo que estas também dependem da latitude. Por exemplo, ao nível do mar e em latitudes elevadas a dose efectiva é de 1.1 vezes maior do que a latitudes menores. Contudo, de significância para voos com tripulações aéreas, em latitudes elevadas a dose efectiva é de 2.0 vezes mais do que a baixas latitudes, que quanto mais se afastar do equador em direcção aos pólos maior será a exposição, que será tanto mais notória quanto mais se voe em altitude.

Concluindo, quanto mais alto se voar maior é a dose de radiação recebida, quanto mais próximo dos pólos maior a dose recebida, quanto mais longo o voo for maior a dose recebida, não desprezando o período da actividade solar que pode trazer doses adicionais.

Oficialmente, tanto a ICRP como a americana FAA consideram as tripulações aéreas ocupacionalmente expostas às radiações cósmicas.

Voando mais e mais ao longo dos anos os tripulantes ocupacionalmente expostos estão sujeitos aos efeitos acumulativos das doses recebidas.

Os pilotos estão mais expostos do que o resto das tripulações, pois é considerado, por algumas fontes, de que a estrutura do avião tem um efeito protector maior na fuselagem do que no cockpit.

Num estudo publicado pelo National Radiation Laboratory em colaboração com Ministério da Saúde da Nova Zelândia observou-se que a dose efectiva crescia à medida que era consumido o combustível. Não nos parece quando comparado com os resultados obtidos nos 51 voos por nós programados e 45 avaliados, pois não encontramos desvios de doses recebidas consoante nos aproximávamos do destino conforme se pode observar nas figuras 28 e 29. Na figura 28 atravessamos o equador e prosseguimos para maior latitude sul, e seria de esperar então um aumento das doses recebidas, o que acontece, mas que, por nós é interpretado pelo efeito da latitude e não pelo consumo de combustível. No caso da figura 29, é bem verdade que vai aumentando a dose recebida mas também se vai evoluindo para latitudes norte, superiores. Pensamos nós, depois de ter comparado os mesmos voos, mas de regresso, com os depósitos de combustível cheios, que, às mesmas latitudes as quantidades de doses recebidas não apresentam desvios significativos dos encontrados à ida, com os depósitos em fim de viagem (pouco cheios); considerando por isso não haver um efeito directo entre o consumo de combustível e o aumento das doses de radiações recebidas.

Ainda, neste estudo se faz referência a um aumento de 30% das doses efectivas recebidas no cockpit em relação com a cabine de passageiros, havendo fontes por nós consultadas que consideram que tipicamente as doses efectivas recebidas no interior do cockpit são 10% superiores, não tendo nós obtido resultados nessas condições, pelo que fica a recomendação para estudos posteriores.

No trabalho de investigação que realizamos tivemos em conta os resultados obtidos pelo método directo que foram posteriormente comparados com os dois métodos indirectos que utilizamos nos voos seleccionados. Observamos que as médias das diferenças em valores absolutos entre o método directo é de 0,00378 mSv para o SIEVERT e 0,00597 mSv para o CARI-6, permitindo isto referenciar como aceitável o valor encontrado, servindo assim e utilizado para a determinação dos resultados das amostras do kit biológico.

O nível de uma exposição natural varia à volta da terra multiplicado por um factor entre 1 e 3, podendo em parte este exceder e multiplicar-se por 10 e algumas vezes, 100.

Quanto aos valores recolhidos na observação directa para a população de controlo encontramos uma média de 0,21 μ Sv /hora com um desvio padrão de 0,04 e que estão de acordo com os resultados publicados para a região.

A Organização Mundial de Saúde (OMS), refere expressamente na folha informativa de Nov.2005, que as radiações cósmicas ao nível do mar contribuem com cerca de 13% das fontes naturais de radiação e noutras publicações consultadas faz-se referência a uma média de 17%.

Também, e seguindo a aludida folha informativa, "tripulações que voem 600 a 800 horas por ano estão expostas entre 2 a 5 mSv de radiação por ano em adição com as normais radiações entre 2 e 3 mSv produzidas pelo homem, (maioritariamente em medicina) e ou fontes naturais de radiação".

Encontramos, num estudo Dinamarquês, a nota de que a dose típica para as tripulações varia entre os 0,2 e 1,1 mSv/ano.

Existe a referência nalguma literatura consultada a alguns dados que julgamos curiosos, mas relevantes, como os que apresentam as doses recebidas para tripulações transcontinentais de 2.0 a 5.0 mSv/ano, e para membros do público ao nível do mar 1.1 mSv anualmente. Quer isto dizer que podem encontrar-se valores para estas duas populações 5 vezes mais no caso dos pilotos, do que membros do público.

Desde 1990, que o ICRP recomendou que as tripulações aéreas devem ser consideradas ocupacionalmente expostas às radiações cósmicas. Na Europa, as tripulações aéreas passíveis de receber doses superiores a 1 mSv por ano devem ser avaliadas e informadas dos potenciais riscos para a saúde.

Encontra-se frequentemente na literatura especializada, bem como nas normas e directivas governamentais referências de que não é necessário qualquer controle das tripulações para doses anuais inferiores a 1 mSv, suportando isto o nosso interesse na investigação - doses superiores a 1 mSv/ano são prejudiciais para os pilotos de linha aérea.

Considera ainda a OMS que as tripulações são reconhecidas em alguns países como ocupacionalmente expostas às radiações, e que os limites da exposição são similares aos estabelecidos para os trabalhadores das instalações nucleares.

No seguimento da nossa investigação, confrontamos os dados obtidos das radiações cósmicas recebidas dos pilotos da "Tap Portugal" (TP) e que fazem parte do estudo, com os dados disponíveis da "Air New Zealand" (NZ), companhia aérea que se encontra nos antípodas de Portugal, com características próxima desta em número e categoria das aeronaves e bem como em número de pilotos, estes de aproximadamente 700, e que têm por base a cidade de Auckland com as coordenadas 36°52' sul e 174°45' este.

No presente, a TP conta com 16 aeronaves de longo curso e 39 de médio curso e a NZ 20 aeronaves de longo curso e 27 de médio curso.

Entre 500 e 700 horas anuais é o número de horas voadas pelas tripulações da NZ, e que embora não coincidentes com as da TP são muito equivalentes pese o facto de na TP para o longo curso encontrarmos ligeiramente acima das 400 horas e ligeiramente inferior a 700 horas/ano, com uma média de operação de 508 horas/ano/piloto (56,4%). Já para o médio curso encontramos valores compreendidos entre as 400 horas e ligeiramente acima das 700 horas/ano de tempo de voo total para uma média de 603 horas/ano/piloto (67%); tendo em observância que, no período de investigação dois pilotos de médio curso e um de longo curso estiveram temporariamente afastados do seu trabalho habitual.

Para os pilotos da TP suportados pelo Dec-Lei nº139/2004, de 05 de Junho, o limite de tempo de voo total é de 900 horas/ano, tanto para o médio como o longo curso, sendo o período de serviço de voo de 1800 horas/ano.

Nos resultados obtidos na TP, numa avaliação global da amostra encontramos uma média de 1,725mSv/piloto/ano de dose recebida, assim distribuída: para o médio curso 2,0008mSv/piloto e 1,424mSv/piloto para o longo curso.

Para este aumento verificado para os pilotos de médio curso em relação aos de longo curso, pensamos que uma das razões é de facto o tipo das rotas operadas por estes. - Longo curso próximo do equador, maiores altitudes e em média menos horas de voo voadas/ano, relativamente aos de médio curso com rotas a maiores latitudes e tempos totais de voo superiores.

Se evoluirmos para termos comparativos de 1000 horas de trabalho anuais por piloto teremos para os pilotos da TP uma média de 3,09116 mSv, sendo 2,80037 mSv para o longo curso e 3,31578 mSv para o médio curso, intervalos que estão de acordo com os valores publicados pela OMS(2 a 5 mSv/ano), estes embora para uma exposição anual de 600 a 800 horas.

Embora não tenhamos efectuado a investigação considerando os patamares de altitude para todos os voos analisados (7405) por se ter recorrido ao método indirecto SIEVERT, em comparação com os dados disponíveis com a NZ e para as 1000 horas de trabalho anuais, com 90% do tempo do voo em altitudes máximas de 39600 pés (12 quilómetros), entre baixas latitudes (0-40) e altas latitudes (40-60), estes podem receber anualmente uma dose de radiação cósmica que excede os 6,5 mSv.

Por outro lado, tripulações voando as mesmas 1000 horas anuais e em médio curso e médias latitudes, 70% a uma altitude de 36300 pés (11 quilómetros) podem receber uma dose de radiações cósmicas que ultrapassa os 3,5 mSv ano.

Para a NZ, a exposição das tripulações às radiações cósmicas nas rotas internacionais a dose anual varia entre os 3 e os 7 mSv, um pouco acima dos valores encontrados para a TP, pese embora, se considerar que a dose das

radiações cósmicas recebidas é mais alta 10% no hemisfério norte do que no hemisfério sul o que contribuiria para um favorecimento dos valores por nós encontrados para os pilotos da TP.

Dos registos que conseguimos, poderemos deduzir que os pilotos da NZ, por voarem da sua base natural Auckland rumo a latitudes norte cruzando o equador com voos mais longos em duração de tempo de que os TP, ainda a maiores altitudes podem justificar os valores superiores aos da TP então encontrados, já que se nota para as rotas regionais que os valores são significativamente inferiores aos de longo curso dentro da NZ.

Uma monitorização individual pode considerar-se como a melhor prática para se conseguir resultados em "update" das doses recebidas, mais, é reconhecido como sendo um custo adicional e injustificável por algumas linhas aéreas; para nós não, e por dois motivos: a) nada justifica o prejuízo de saúde para um operador no desempenho das suas tarefas da função; b) estamos em desenvolvimento de um protótipo, num projecto de investigação, do qual já temos uma estimativa de custos, à partida modestos, e que permitem determinar em tempo real as doses recebidas por cada piloto, não havendo portanto lugar a tal justificação.

O material das células do organismo (conhecido por DNA) é muito sensível às radiações ionizantes. Quando se expõe de novo o DNA a qualquer tipo de radiação ionizante, ao longo do tempo, este pode modificar-se e evoluir para cancro, embora isto não signifique que toda a população exposta às radiações ionizantes venha a sofrer de cancro.

Em teoria, pequenas exposições às radiações podem gerar uma cadeia de acontecimentos que podem evoluir mais tarde para cancro. O mecanismo de reparação do organismo é normalmente capaz de evitar que o dano no DNA desenvolva cancro, sendo que a probabilidade de acontecer se deve à capacidade de reparação. Praticamente todos são unânimes em afirmar que a possibilidade de um piloto com um elevado número de horas de voo vir a sofrer de cancro, é de 1% mais do que para a população em geral.

Num estudo por nós consultado de NRL, NZ é referido que tripulações voando 30 anos ou mais nas rotas onde a exposição é maior, e por isso a quantidade de radiações cósmicas recebidas também é maior, há um risco acrescido da morte por cancro em 1%.

Para uma selecção de diferentes rotas (médio e longo curso) poderia o risco ser acrescido de um valor inferior a 1 em 10000, considerando pois que uma incidência de cancro numa ordem de grandeza como esta não é sustentada. A incidência natural de cancro na população da New Zealand é de 1 em 4. Fazendo referência aos pilotos de "Concorde" com doses de radiações cósmicas recebidas de 11 a 37 mSv/ano encontrou-se um acentuado aumento

de aberrações cromossómicas em linfócitos, num estudo publicado pelo BMJ (16 de Dezembro de 2008), e diz-se que pilotos que tenham voado por muitos anos podem estar em risco de dano do seu DNA pela exposição prolongada às radiações cósmicas.

Encontramos na literatura, sobretudo na "investigação de ponta" referências em que considera que as translocações cromossómicas são um bom indicador do efeito acumulativo no DNA pela exposição às radiações ionizantes.

Continuando nesta linha de considerações científicas, consultamos um estudo recentemente realizado e a que tivemos acesso em que se comparava o número de translocações cromossómicas por cada 100 células equivalentes (CE), em duas populações distintas, uma composta pela staff de uma universidade e outra por tripulações de uma companhia aérea, constituídos os dois grupos por homens com idades entre os 35 e 56, não fumadores ou hábitos tabágicos não marcados, conhecidos que são como factores de risco acrescidos para danificar o DNA, a idade e o ser fumador, tendo-se concluído que a média de frequência das translocações dos cromossomas é mais elevada entre as tripulações aéreas do que entre o staff da escola (0,39 comparado com 0,32/100 CE).

Quando centraram a análise no tempo de voo (nº de anos) logicamente dirigido só a pilotos, surgem as maiores diferenças, sendo que os pilotos que mais horas tinham voado apresentavam mais de o dobro das translocações cromossómicas do que os que voaram menos.

E, porque as alterações cromossómicas têm vindo a ser associadas a um aumento do risco de cancro, os resultados das amostras sugerem que os pilotos mais experientes, os que tem maior número de horas de voo estão expostos a doses biológicas significativas de radiações ionizantes, neste caso cósmicas.

Durante a nossa exploração investigatória dirigimos a nossa atenção e interesse para determinar os valores da esperança de vida dos pilotos afiliados da APPLA. Consultamos os ficheiros existentes, e dos 128 óbitos havido, conseguimos saber a idade da morte em 95 casos (74.21%).

Consideradas que foram todas as causas de morte (doença, acidentes, suicídio, etc), para estes 95 casos, ficamos com um valor de 56,64 anos para a esperança média de vida dos pilotos desta associação o que é manifestamente inferior à da população portuguesa, neste caso homens, e que é de 74,84 anos conforme dados relativos ao triénio 2004-2006 divulgado do Instituto Nacional de Estatística (INE).

Analisando só as causas de morte relacionada com doença obtemos então uma média de 66,19 anos, o que é superior, quando consideradas todas as causas,

mas 8,65 anos a menos, o que em bom rigor não pode reflectir uma causa próxima.

Dada a conveniente evidência dos efeitos das radiações e a instabilidade genómica nos sistemas celulares, é importante considerar o seu papel in vivo e a sua relevância para o risco das radiações.

Para se determinar o risco das radiações tem sido utilizados modelos baseado na acção directa no DNA tornando-se este num primeiro evento no processo da carcinogenese.

É necessário referir que de todos os estudos consultados apenas alguns apontam para o aumento da incidência de cancro (melanoma maligno) em pilotos de linha aérea⁷⁵. Em nenhum caso foi possível estabelecer uma correlação entre este aumento e um factor ocupacional, tal como a exposição a radiações cósmicas.

Num estudo publicado na revista "The Lancet" elaborado por pesquisadores do Instituto do Cancro de Copenhaga, Dinamarca, revelaram que em 3700 pilotos e comissários de bordo com mais de 5000 horas de voo se registaram 92 casos de cancro, enquanto a média da população do país é de 77 casos, para um mesmo número.

Estudos recentes mostram um aumento da mortalidade por cancro entre pilotos de aviões comerciais, incluindo cancro do cérebro, sistema nervoso, doença de Hodgking's, melanoma maligno e leucemia mieloide.

Sabemos que o cancro é um dos principais efeitos de saúde associado à exposição a baixas doses de radiação ionizante.

A radiação cósmica é uma fonte de muito baixa radiação, sendo por isso muito difícil determinar o risco associado ao desenvolvimento de cancro com as ferramentas científicas actuais.

Esta opinião suporta ainda que a exposição às radiações cósmicas pode ser uma causa da incidência de alguns cancros, em particular o melanoma e o não-melanoma cancro da pele (basilomas, espinocelular, etc).

Será útil também fazer referência a um estudo "Aircrew Exposure to Cosmic Radiation Involves only Slight Câncer Risk" publicado na Air Safety Week, de 19 Fevereiro, de 2001, onde os Profs Lewis e Bennett concluíram que se para a população em geral a morte por cancro é de 25 %, uma exposição de 6 mSv por 30 anos aumenta o risco de morte por cancro de 25 para 25,7%.

⁷⁵ Hrafnkelsson J, Tulinius H, Kjeld M, Sigvaldason H, Jonasson JG. Serum thyroglobulin as a risk factor for thyroid carcinoma. Acta Oncol. 2000;39(8):973-7.

Estudos similares levados a cabo pela Dr^a Slavicc Vlahovich do Canada, considerou que sobre o efeito de uma dose total de 120 mSv/ano durante 20 anos (6 mSv/anos $\times 20 = 120\text{mSv}$), e se em 1000 trabalhadores em condições normais 250 morrem de cancro então pela acumulação de 120 mSv morrem 255 (25,5%).

Assume a Dr^a Vlahovich de que alguns estudos epidemiológicos não são muito rigorosos quando se "explica" diferenças de 1% ou menos entre pilotos e população em geral.

Suporta esta, ainda, de que para as tripulações poderá haver outros factores agravantes como a exposição ao ozono, jet fuel, benzeno, dietas, desregulação do ritmo circadiano, etc, tendo todavia terminado com uma frase que para nós, por não ser conclusiva, demonstra a dificuldade da abordagem desta problemática, e diz então, "voar envolve um ligeiro aumento de risco de cancro para os expostos durante toda a vida".

Por último, uma referência a um estudo ocupacional de coorte sobre a incidência de cancro entre os pilotos de linhas aéreas de países nórdicos, Dinamarca, Finlândia, Islândia, Noruega e Suécia, durante 5 décadas, publicado no BMJ de 14 de Setembro de 2002, em que participaram 10032 elementos do sexo masculino, e foram diagnosticados 466 casos de cancro comparados com os 456 esperados.

Neste estudo também se verificou um significativo aumento para o cancro da pele: melanoma 2.3 (com um intervalo de confiança de 95%, entre 1.7 e 3.0); não-melanoma 2.1 (1.9 a 3.2), basocelular 2.5 (1.9 e 3.2), e concluindo-se que embora este estudo não indique um marcado aumento de risco de cancro atribuível às radiações cósmicas, contudo não se pode excluir com segurança alguma influência destas no cancro da pele.

Para suportar todas estas apreciações pensamos ser necessário levar em consideração estudos epidemiológicos com um largo follow-up de grandes coortes de pilotos com larga exposição a níveis altos de radiações cósmicas para então se poder afirmar ou não da relação entre a exposição às radiações cósmicas e o risco de cancro.

Pensamos que apenas a determinação e análise de sequências de DNA poderá auxiliar a obter algumas conclusões. No que diz respeito à análise de resistência de células, veio a verificar-se que mais uma vez não existem diferenças significativas entre células expostas e controlo a nível de unidades formadoras de colónias (UFCs). Muito provavelmente este facto fica a dever-se à capacidade das células utilizadas fazerem a reparação de danos com elevada eficiência.

Assim, poderemos concluir que o kit biológico não funcionou por forma a detectar efeitos da exposição, pelo que numa futura investigação ou continuação deste estudo seja aconselhável introduzir algumas alterações a esta metodologia por forma a torná-la útil para a determinação/avaliação de danos neste tipo de macromoléculas biológicas.

Das várias amostras estudadas, referentes aos vários voos monitorizados, foi possível verificar que a maioria dos perfis de DNA das amostras expostas era semelhante aos das não expostas. Este resultado pode ter dois tipos de interpretações. Em primeiro lugar, podemos considerar que o tipo de análise não é adequado, ou pouco sensível para a avaliação deste tipo de dano ao nível do DNA. Em segundo lugar, podemos considerar que o nível de exposição às quais foram sujeitas as amostras não é significativamente mais danoso para o DNA do que o nível residual às quais estiveram expostas as amostra de controlo.

Por estas razões e confrontados com os resultados por nós obtidos pela exposição directa às radiações cósmicas do DNA, proteínas e células do kit biológico, em que não é seguro dizer-se que encontramos alterações significativas nos resultados das observações, não será fácil com as ferramentas a este nível disponíveis encontrar uma relação causa-efeito que permita tranquilizar ou conseguir formas de minorar o prejuízo de saúde nesta classe profissional.

A concentração urinária das 8OHdG é considerada um importante biomarcador do stress oxidativo endógeno de DNA e seus precursores. Avaliando os resultados das várias amostras de sangue e urina, bem como das radiações cósmicas, quer em bruto, após normalização com transformação Z (z-score) e por componentes principais, ainda que dentro do erro estatístico, é possível verificar que os pilotos possuem níveis superiores de 8OHG/creatininuria e de capacidade antioxidante, e menores de ferritina.

Esta observação poderia ser explicada pela maior taxa de reparação de lesões a nível do DNA (levando a um valor superior da razão 8OHG/criatininuria) e um aumento da capacidade metabólica em destruir ROS/RNS (medida pelo ensaio da capacidade antioxidante). Os valores mais baixos de ferritina podem ser interpretados como uma falha na capacidade de armazenar ferro ferroso, o que por sua vez potencia a formação com ROS/RNS.

Numa análise posterior foi possível demonstrar a existência de uma correlação positiva entre as variáveis ferritina, hemoglobina e estimativa de exposição a radiação cósmica estimada (Sievert) e negativa com a variável 8OHG. De uma forma global poderemos interpretar que estas observações suportam a explicação de o metabolismo dos pilotos estar adequado a impedir a formação de espécies reactivas (ROS, RNS) e a potenciar a taxa de reparação de bases de

DNA, num ambiente de pressão parcial de oxigénio inferior à normal (ao nível do mar).

Um facto interessante é o aparecimento no mesmo quadrante das variáveis ferritina, hemoglobina e estimativa de exposição a radiação cósmica (Sv) que traduz uma correlação positiva. Esta correlação poderá ser explicada pela conjugação de efeitos entre exposição às radiações cósmicas e a baixas parciais de oxigénio molecular condicionadas pelo ambiente de trabalho.

Assim, baixas saturações de oxigénio molecular implicam altas concentrações de hemoglobina. Conjugadas com a exposição adicional à radiação cósmica o aumento na concentração de ferritina é compreendido pela necessidade metabólica de no mesmo ambiente proporcionar um stock de iões ferro que possibilitem uma elevada síntese de hemoglobina e que ao mesmo tempo se encontram sequestrados não potenciando reacções que contribuem para o stress oxidativo (por exemplo reacções de Fenton). Existe ainda uma possível correlação negativa com a razão 8OHG/creatininúria o que se entende com base no facto deste metabolito ser proveniente de acções de reparação de ácidos nucleicos. Em total concordância está o facto da capacidade antioxidante (EPR) poder ser interpretada com uma correlação negativa versus a razão 8OHG/creatininúria, como seria de esperar num ambiente intracelular em que uma maior capacidade de evitar a formação de espécies que contribuam para o stress oxidativo leva a menores danos.

Por fim, é de salientar que mais do que olhar para uma única patologia cuja correlação com a exposição nunca foi encontrada, demonstra-se pela primeira vez que uma bateria de testes clínicos pode ser usada para aferir diferenças metabólicas inerentes à profissão de pilotos de linha aérea.

Da observância de todos estes resultados não se torna difícil elencar, por ora, algumas conclusões, umas que por tão evidentes justificam acção sobre elas, outras por tão pouco seguras sugerem a continuação do investimento em investigação quanto a esta problemática.

VI. Conclusões e sugestões

Conclusões

Por tudo isto consideramos que:

- 1 - Os pilotos de linha aérea estão ocupacionalmente expostos às radiações cósmicas.
- 2 - A quantidade de radiações cósmicas recebidas pelos pilotos da Tap Portugal é maior para o médio curso do que para o longo curso, devendo-se isto ao tipo de rotas.
- 3 - Não estão disponíveis no mercado, testes clínicos que, de uma maneira cientificamente correcta, possam estabelecer para cada piloto o seu nível de tolerância/resistência a uma maior exposição à radiação cósmica.
- 4 - Observamos uma correlação positiva entre a ferritina, a hemoglobina e as estimativas de exposição à radiação cósmica (Sv) que poderá ser explicada pela conjugação de efeitos entre a exposição às radiações cósmicas e a baixas parciais de oxigénio molecular condicionadas pelo ambiente de trabalho.
- 5 - Observamos que a exposição à radiação cósmica influencia o metabolismo dos pilotos, podendo este ser por estar adequado a impedir a formação de espécies reactivas (ROS, RNS) e a potenciar a taxa de reparação de bases de DNA, num ambiente de pressão parcial de oxigénio inferior à normal (ao nível do mar).
- 6 - Apesar de não ser possível falar de um efeito cumulativo normal, não é de todo impossível pensar que a exposição ocupacional a que um piloto de linha aérea está sujeito possa provocar um desgaste no sistema metabólico. Este desgaste pode levar a que, em idades mais avançadas da carreira, a resposta a lesões a nível da informação genética ou de stress oxidativo não sejam as adequadas e que por esse motivo se venham a desenvolver determinadas patologias. Ainda que nenhum estudo sistemático exista, esta observação parece ser apoiada pela menor esperança média de vida que se observa em pilotos de linha aérea.
- 7 - O kit biológico não funcionou, como esperado, de forma a detectar os efeitos da exposição.
- 8 - A análise multivariável separa nitidamente as duas populações exposta e de controlo no conjunto de todas as variáveis estudadas.

Sugestões

As observações e, consequentemente, as conclusões retiradas deste trabalho tornam quase obrigatória a formulação de sugestões (para estudos e implantação futura) no que diz respeito não só ao acompanhamento desta classe profissional no seu local de trabalho, como também às metodologias utilizadas para esse fim, para que se consiga atingir, de uma forma relativamente simples, uma melhoria na qualidade de vida. Assim:

1 - É fortemente aconselhável proceder a uma avaliação correcta e sistemática do risco e monitorização da exposição ocupacional à radiação cósmica por parte dos pilotos de linha aérea.

2 - Dadas as diferenças verificadas ao nível da exposição à radiação cósmica entre a população em estudo e a população controlo e, especialmente, dentro da população em estudo, seria muito útil se cada um destes elementos pudesse ser monitorizado a nível individual. Com base nesta ideia foi já possível começar a desenhar um protótipo de “dosímetro individual” com base na medição no cockpit da radiação recebida por cada piloto. Este equipamento está numa primeira fase de patenteamento.

3 - Os dados obtidos apontam para uma necessidade de acompanhamento desta classe profissional por forma a perceber, em tempo útil, se esta exposição ocupacional não se torna um factor de prejuízo de saúde. A realização de um estudo alargado a nível europeu, com parcerias entre associações de pilotos e companhias de linha aérea, seria certamente um modo de iniciar de forma concertada tão necessária monitorização.

4 - Para uma futura investigação ou continuação deste estudo seria aconselhável a introdução de algumas alterações no kit biológico podendo assim esta metodologia tornar-se útil para a determinação/ avaliação de danos neste tipo de macromoléculas biológicas.

5 - Seria útil numa fase posterior estender a investigação a toda a tripulação de voo.

6 - Uma opção viável para limitar as doses de radiações cósmicas recebidas pelas tripulações seria a monitorização individual das tripulações por forma a que os resultados obtidos pudessem ser usados para ajustar, em update, as horas de voo atribuídas.

VII. Conclusions and Suggestions

Conclusions

- 1 – Airline pilots are occupationally exposed to cosmic radiation.
- 2 – The amount of cosmic radiation received by TAP Portugal pilots is higher for the medium-haul flights than for the long-haul flights, due to the nature of routes flown by the company.
- 3 – There are no medical tests available for purchase which, in a scientifically correct manner, can establish the level of tolerance/ resistance of each pilot towards a higher level of exposure to cosmic radiation.
- 4 – There is a positive correlation between the results obtained for the ferritin and hemoglobin tests and the values calculated for the exposure to the cosmic radiation. This fact could be explained if we consider that, during the work period, pilots are not only exposed to higher amounts of cosmic radiation but also in an environment with low amounts of oxygen.
- 5 – Occupational exposure to cosmic radiation causes differences in the metabolism of the airline pilots' population. This can be related to de ROS, RNS tolerance and the efficiency of DNA repair in these individuals. These are both dependent on the environment conditions during work period (such as the oxygen amounts).
- 6 – Although it is not possible to assume a cumulative effect, it is not altogether impossible to think that the occupational exposure to which an airline pilot is subjected can have influence in the metabolic system. This effect can lead to a situation in which, in more advanced ages, during the career, the response to lesions at both genetic and oxidative stress levels might not be the adequate ones, consequently causing certain pathologies to be developed. Even though there is no systematic study, this observation seems to be supported by a shorter life expectancy observed among airline pilots.
- 7 – The “biologic Kit” did not work, as expected in order to detect the effects of the exposure.
- 8 – The multiparametric approach clearly separates the two populations, exposed and control, regarding the all the variables studied.

Suggestions

The knowledge collected from this work lead to an important amount of conclusions that, almost imply the formulation of new question to be answered in future studies. These questions are related not only to the

monitoring of the airline pilots' population but also the methodologies used for that purpose, in a way that could lead to an improvement of this population's lifestyle. Thus:

1 – It is important to conduct a correct assessment of the risk, as well as monitoring the occupational exposure to cosmic radiation by airline pilots.

2 – It would be most useful if each pilot could be monitored individually, especially if we consider not only the differences between the two populations (pilots and control) but also the differences inside the same population (pilots). Based on this idea, it has already been possible to start designing a prototype of an "individual dosimeter", to be used to measure the radiation received by each pilot inside the cockpit. This equipment is on a first stage of patenting.

3 – The obtained data points to the need to follow this professional class, in order to understand, in useful time, if this occupational exposure does not become a factor of health hazard. The development of a broad, European wide study, with partnerships between pilot associations and airline companies would certainly be a way of initiating, in a joint manner, the so needed monitoring.

4 – It is demanding that in future studies, improvements are performed to the biological kit, in order to accomplish a better evaluation of the damage caused to certain biological molecules.

5 – On a second phase it would be useful to extend this investigation to the entire flight crew.

6 – In order to avoid large exposure to cosmic radiation, the results obtained from an accurate calculation of the radiation dose received by an airline pilot crew should be used to adjust, in real-time, the future number of flight hours.

VIII.Bibliografia

Bibliografia

http://nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1936/press.html.

<http://www.nrl.moh.govt.nz>.

Alves-Pereira M, Castelo Branco NA. Vibroacoustic disease: biological effects of infrasound and low-frequency noise explained by mechanotransduction cellular signalling. *Progress in biophysics and molecular biology*. 2007 Jan-Apr;93(1-3):256-79.

Apel U. Human factors and health in Space tourism. 2nd International Symposium on Space Tourism. Bremen; 1999.

Bagshaw M. Cosmic radiation in commercial aviation. . IFALPA Human Performance Committee Meeting. 2006.

Bagshaw M. Cosmic radiation in commercial aviation. *Travel medicine and infectious disease*. 2008 May;6(3):125-7.

Bailey DM, Davies B, Young IS, Jackson MJ, Davison GW, Isaacson R, et al. EPR spectroscopic detection of free radical outflow from an isolated muscle bed in exercising humans. *J Appl Physiol*. 2003 May;94(5):1714-8.

Ballarini F, Ottolenghi A. A model of chromosome aberration induction: applications to space research. *Radiation research*. 2005 Oct;164(4 Pt 2):567-70.

Bartlett DT, Hager LG, Tanner RJ. The determination of the neutron component of cosmic radiation fields in spacecraft. 21st International Conference on Nuclear Tracks in Solids (ICNTS-21); 2003 Oct 21-25; New Delhi, India: Pergamon-Elsevier Science Ltd; 2003. p. 439-43.

Bartlett, D. Radiation protection aspects of the cosmic radiation exposure of aircraft crew. *Radiation Protection Dosimetry*, . 2004, Vol. 109, pp. 345-355.

Beck, P., Bartlett, D., Lindborg, L., McAulay, I., Schnuer, K., Schraube, H., & Spurny, F. Aircraft crew radiation workplaces: Comparison of measured and calculated ambient dose equivalent rate data using the EURADOS in-flight radiation data base. *Radiation Protection Dosimetry*, . 2006, Vol. 118, pp. 182-189.

Belli M, Sabora O, Tabocchini MA. Molecular targets in cellular response to ionizing radiation and implications in space radiation protection. *Journal of radiation research*. 2002 Dec;43 Suppl:S13-9.

Bernard A, Lauwerys R. Turbidimetric latex immunoassay for serum ferritin. *Journal of Immunological methods* 1984;71:141-147.

Biological Effects of Radiation. United States Nuclear Regulatory Commission. 2003;Office of Public Affairs.

Blakely, E., Biological effects of cosmic radiation: Deterministic and stochastic. *Health Physics*. 2000, Vol. 79, pp. 495-506.

Blettner, M., & Zeeb, H., Epidemiological studies among pilots and cabin crew. *Radiation Protection Dosimetry*. 2000, Vol. 86, pp. 269-273.

Boice, J., Jr., Blettner, M., & Auvinen, A., Epidemiologic studies of pilots and aircrew. *Health Physics*. 2000, Vol. 79, pp. 576-584.

Bolzan AD, Bianchi MS, Gimenez EM, Flaque MCD, Ciancio VR. Analysis of spontaneous and bleomycin-induced chromosome damage in peripheral lymphocytes of long-haul aircrew members from Argentina. *Mutat Res-Fundam Mol Mech Mutagen*. 2008 Mar;639(1-2):64-79.

Bottollier-Depois JF, Blanchard P, Clairand I, Dessarps P, Fuller N, Lantos P, et

al. An operational approach for aircraft crew dosimetry: the SIEVERT system. Radiation protection dosimetry. 2007;125(1-4):421-4.

Bottollier-Depois JF, Chau Q, Bouisset P, Kerlau G, Plawinski L, Lebaron-Jacobs L. Assessing exposure to cosmic radiation on board aircraft. Adv Space Res. 2003;32(1):59-66.

Cecilia Giulivi and Kelvin J. A. Davies, Dityrosine and Tyrosine Oxidation Products Are Endogenous Markers for the Selective Proteolysis of Oxidatively Modified Red Blood Cell Hemoglobin by (the 19 S) Proteasome, The Journal Of Biological Chemistry, April 1993; 268(12): 8752-8759.

Cecilia Giulivi and Kelvin J. A. Davies, Mechanism of the Formation and Proteolytic Release of H₂O₂-induced Dityrosine and Tyrosine Oxidation products in Hemoglobin and Red Blood Cells, The Journal Of Biological Chemistry, June 2001; 276(26): 24129–24136.

Chang D, Chen F, Zhang FF, McKay BC, Ljungman M. Dose-dependent effects of DNA-damaging agents on p53-mediated cell cycle arrest. Cell Growth Differ. 1999 Mar;10(3):155-62.

Chen J, Lewis BJ, Bennett LG, Green AR, Tracy BL. Estimated neutron dose to embryo and foetus during commercial flight. Radiation protection dosimetry. 2005;114(4):475-80.

Collins AR. Oxidative DNA damage, antioxidants, and cancer. Bioessays. 1999 Mar;21(3):238-46.

Cook JGH. Creatinine assay in the presence of proteins. Clin Chim Acta 1971;32:485-486.

Cooke MS, Evans MD, Dove R, Rozalski R, Gackowski D, Siomek A, et al. DNA repair is responsible for the presence of oxidatively damaged DNA lesions in urine. Mutation research. 2005 Jul 1;574(1-2):58-66.

Courades JM. The Objectives of the Directive on Radiation Protection for Patients. *Radiation protection dosimetry*. 1992;43(1-4):7-10.

Damian M. Bailey, Bruce Davies, Ian S. Young, Malcolm J. Jackson, Gareth W. Davison, Roger Isaacson, and Russell S. Richardson, EPR spectroscopic detection of free radical outflow from an isolated muscle bed in exercising humans, *Journal Applied Physiology* 2003; 94, 1714:1718.

Donatella Pietraforte And Maurizio Minetti, Direct ESR detection of peroxynitrite-induced tyrosine-centred protein radicals in human blood plasma, *Biochemical Journal* 1997; 325, 675:684.

Fair banks VF, Klee GG. Biochemical aspects of hematology. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of clinical chemistry*. Philadelphia. WB Saunders Company, 1987:823pp.

Friedberg, W., Copeland, K., Duke, F., Nicholas, J., Darden, E. & O'Brien, K., Radiation exposure of aircrews. *Occupational Medicine*. 2002, Vol. 17, pp. 293-309.

Friedberg, W., Copeland, K., Duke, F., O'Brien, K., & Darden, E., Radiation exposure during air travel: Guidance provided by the Federal Aviation Administration for air carrier crews. *Health Physics*. 2000 Vol. 79, pp. 591-595.

Gálvez Vargas R, Sierra López A, Sáenz González M. C, Gómez López L. I, Fernández-Crehuet Navajas J, Salleras Sanmartí L, Cueto Espinar A, Gestal Otero J. J, et al. Piédrola Gil, *Medicina Preventiva Y Salud Pública* (10ª edição). Barcelona: Masson 2001.

Hajek, M., Berger, T., & Vana, N. (2004). A TLD-based personal dosimeter system for aircrew monitoring. *Radiation Protection Dosimetry*, Vol. 110, pp. 337-341.

Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British journal of pharmacology*. 2004 May;142(2):231-55.

Hammer, G., Zeeb, H., Tveten, U., & Blettner, M., Comparing different methods of estimating cosmic radiation exposure of airline personnel. *Radiation & Environmental Biophysics*. 2000, Vol. 39, pp. 227-231.

Health Risks From Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation: BEIR VII: National Academy Press.

Hellweg CE, Baumstark-Khan C. Getting ready for the manned mission to Mars: the astronauts' risk from space radiation. *Die Naturwissenschaften*. 2007 Jul;94(7):517-26.

Hrafnkelsson J, Tulinius H, Kjeld M, Sigvaldason H, Jonasson JG. Serum thyroglobulin as a risk factor for thyroid carcinoma. *Acta Oncol*. 2000;39(8):973-7.

Imlay JA. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Annu Rev Biochem*. 2008;77:755-76.

Kendall, G., Factors affecting cosmic-ray doses at aircraft altitudes. *Health Physics*. 2000, Vol. 79, pp. 560-562.

Kim JN, Lee BM. Risk factors, health risks, and risk management for aircraft personnel and frequent flyers. *Journal of toxicology and environmental health*. 2007 Apr-May;10(3):223-34.

Kojo, K., Aspholm, R., & Auvinen, A., Occupational radiation dose estimation for Finnish aircraft cabin attendants. *Scandinavian Journal of Work, Environment, & Health*. 2004, Vol. 30, pp. 157-163.

Langner I, Blettner M, Gundestrup M, Storm H, Aspholm R, Auvinen A, et al. Cosmic radiation and cancer mortality among airline pilots: results from a European cohort study (ESCAPE). *Radiation and environmental biophysics*. 2004 Feb;42(4):247-56.

Lantos P, Fuller N, Bottollier-Depois JF. Methods for estimating radiation doses received by commercial aircrew. *Aviation, space, and environmental medicine*. 2003 Jul;74(7):746-52.

Lantos P, Fuller N. History of the solar particle event radiation doses on-board aeroplanes using a semi-empirical model and concorde measurements. *Radiation protection dosimetry*. 2003;104(3):199-210.

Lantos P. Predictions of galactic cosmic ray intensity deduced from that of sunspot number. *Sol Phys*. 2005 Jul;229(2):373-86.

Lantos P. The Sun and its effects on the Terrestrial environment. *Radiation protection dosimetry*. 1993;48(1):27-32.

Larsen K. Creatinine assay in the presence of proteins with LKB 8600 reaction rate analyser. *Clin Chem Acta* 1972;38:475-6.

Lim MK. Cosmic rays: are air crew at risk? *Occupational and environmental medicine*. 2002 Jul;59(7):428-32; discussion 32-3.

Malencik DA, Anderson SR. Dityrosine as a product of oxidative stress and fluorescent probe. *Amino acids*. 2003 Dec;25(3-4):233-47.

Malin MJ, Fan SS and Benezra J: Mechanism of automated alkaline methods for the determination of hemoglobin in whole blood based on the micellization of ligated heme in presence and absence of cyanide. *Anal Chim Acta* 262:67 (1992).

McAulay, I., Regulatory control of air crew exposure to cosmic radiation: The European approach. *Health Physics*. 2000, Vol. 79, pp. 596-599.

McCollough CH, Schueler BA, Atwell TD, Braun NN, Regner DM, Brown DL, et al. Radiation exposure and pregnancy: when should we be concerned? *Radiographics*. 2007 Jul-Aug;27(4):909-17; discussion 17-8.

Melo PEL. Avaliação de doses de radiação cósmica para tripulações militares de aeronaves de transporte. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa; 2008.

Mohler, S., Galactic radiation exposure during commercial flights: Is there a risk? *Canadian Medical Association Journal*. 2003, Vol. 168, pp. 1157-1158.

Molla M, Panes J. Radiation-induced intestinal inflammation. *World J Gastroenterol*. 2007 Jun;13(22):3043-6.

Morkunas, G., Pilkyte, L., & Ereminas, D., Evaluation of exposure to cosmic radiation of flight crews of Lithuanian airlines. *International Journal of Occupational Medicine & Environmental Health*. 2003, Vol. 16, pp. 161-167.

Muller K, Meineke V. Radiation-induced alterations in cytokine production by skin cells. *Experimental hematology*. 2007 Apr;35(4 Suppl 1):96-104.

Newman DJ, Price CP. Renal function and nitrogen metabolites. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz textbook of clinical Chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999; 1239-1242.

Nicholas JS, Butler GC, Davis S, Bryant E, Hoel DG, Mohr LC, Jr. Stable chromosome aberrations and ionizing radiation in airline pilots. *Aviation, space, and environmental medicine*. 2003 Sep;74(9):953-6.

Nie G, Lu Z, Soe-Lin S, Zhao B, Ponka P. Overexpression of mitochondrial ferritin sensitizes cultured cells to oxidative stress via an iron-mediated mechanism. *Am J Hematol*. 2007 Jun;82(6):545-.

Nistala R, Whaley-Connell A, Sowers JR. Redox control of renal function and hypertension. *Antioxid Redox Signal*. 2008 Dec;10(12):2047-89.

Norbert Vrbjar, Stefan Zöllner, Reiner F. Haseloff, Margit Pissarek and Ingolf E. Blasig, PBN spin trapping of free radicals in the reperfusion-injured heart. Limitations for pharmacological investigations, *Molecular and Cellular Biochemistry* 1998; 186, 107:115.

O. Augusto and S. Muntz Vaz, EPR spin-trapping of protein radicals to investigate biological oxidative mechanisms, *Amino Acids* 2007; 32: 535–542.

O' Sullivan, D., Bartlett, D., Beck, P., Bottollier, J., Schrewe, U., Lindborg, L., Tommasino, L., & Zhou, D., Recent studies on the exposure of aircrew to cosmic and solar radiation. *Radiation Protection Dosimetry*. 2002, Vol. 100, pp. 495-498.

O'Brien, K., Smart, D., Shea, M., Felsberger, E., Schrewe, U., Friedberg, W., & Copeland, K., World-wide radiation dosage calculations for aircrew members. *Advances in Space Research*. 2003, Vol. 31, pp. 835-840.

Pearson CG, Shikazono N, Thacker J, O'Neill P. Enhanced mutagenic potential of 8-oxo-7,8-dihydroguanine when present within a clustered DNA damage site. *Nucleic Acids Res*. 2004 Jan;32(1):263-70.

Pojea M, Vukovic B, Varga M, Radolic V, Miklavcic I, Faj D, et al. Relation between galactic and solar cosmic radiation at aviation altitude. *Adv Space Res*. 2008 Dec;42(12):1913-6.

Prasad, K., Rationale for using multiple antioxidants in protecting humans against low doses of ionizing radiation. *British Journal of Radiology*. 2005, Vol. 78, pp. 485-492.

Pukkala E, Aspholm R, Auvinen A, Eliasch H, Gundestrup M, Haldorsen T, et al. Incidence of cancer among Nordic airline pilots over five decades: occupational cohort study. *BMJ (Clinical research ed)*. 2002 Sep 14;325(7364):567.

Rafnsson V, Hrafnkelsson J, Tulinius H. Incidence of cancer among commercial airline pilots. *Occupational and environmental medicine*. 2000 Mar;57(3):175-9.

Richard E. Glover, Edward D. Ivy, Eugene P. Orringer, Hiroshi Maeda and Ronald P. Mason, Detection of Nitrosyl Hemoglobin in Venous Blood in the Treatment of Sick Cell Anemia with Hydroxyurea, *Molecular Pharmacology* 1999; 55, 1006:1010.

Shimada A, Shima A, Nojima K, Seino Y, Setlow RB. Germ cell mutagenesis in medaka fish after exposures to high-energy cosmic ray nuclei: A human model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005 Apr 26;102(17):6063-7.

Sigurdson, A., & Ron, E., Cosmic radiation exposure and cancer risk among flight crew. *Cancer Investigation*. 2004, Vol. 22, pp. 743-761.

Simpson JA. Elemental and isotopic composition of the galactic cosmic-rays. *Annu Rev Nucl Part Sci*. 1983;33:323-81.

Spitz DR, Azzam EI, Li JJ, Gius D. Metabolic oxidation/reduction reactions and cellular responses to ionizing radiation: A unifying concept in stress response biology. *Cancer Metastasis Rev*. 2004 Aug-Dec;23(3-4):311-22.

Stone R. Epidemiology - Russian cancer study adds to the indictment of low dose radiation. *Science*. 2005 Nov;310(5750):959.

Thomas L. Creatinine. In: Thomas I. ed. *Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results*. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:366-371.

Thomas L. Total protein. In: Thomas I. ed. Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results. Frankfurt/main: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:644-647.

Thompson SG, Principals for competitive binding assays. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry theory, analysis and correlation. St Louis: Mosby, 1996:265pp.

Tondel M, Arynchyn A, Jonsson P, Persson B, Tagesson C. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine in Belarussian children relates to urban living rather than radiation dose after the Chernobyl accident: A pilot study. Arch Environ Contam Toxicol. 2005 May;48(4):515-9.

Tveten U, Haldorsen T, Reitan J. Cosmic radiation and airline pilots: Exposure pattern as a function of aircraft type. Radiation protection dosimetry. 2000;87(3):157-65.

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem-Biol Interact. 2006 Mar;160(1):1-40.

Walsh L. A short review of model selection techniques for radiation epidemiology. Radiation and environmental biophysics. 2007 Aug;46(3):205-13.

Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Amer J Clin ath 1946; 16:40-48.

Whelan, E., Cancer incidence in airline cabin crew. Occupational & Environmental Medicine. 2003, Vol. 60, pp. 805-806.

Wilson, J., Overview of radiation environments and human exposures. Health Physics. 2000, Vol. 79, pp. 470-494.

Wolf, G., Obe, G., & Bergau, L., Cytogenic investigations in flight personnel. Radiation Protection Dosimetry. 1999, Vol. 86, pp. 275-278.

Wood RD, Mitchell M, Sgouros J, Lindahl T. Human DNA repair genes. Science. 2001 Feb;291(5507):1284-+.

Yong, L., Sigurdson, A., Ward, E., Waters, M., Whelan, E., Petersen, M., Bhatti, P., Ramsey, M., & Tucker, J., Increased frequency of chromosome translocation in airline pilots with long-term flying experience. Occupational & Environmental Medicine. 2008, Vol. 66, pp. 56-62.

Zhiru Ma, Baolu Zhao, Zhuobin Yuan, Application of electrochemical and spin trapping techniques in the investigation of hydroxyl radicals, Analytica Chimica Acta 1999; 389, 213:218.

IX. Anexos

Anexo I - Protocolo de Cooperação com APPLA



PROTOCOLO

Entre:

1º **Dr. Rodrigo Oliveira Silva**, residente na Rua da Escola Primária, nº 235, 3730-224 Vale de Cambra, portador do B.I. nº 2700718, adiante designado por "Dr. Rodrigo Silva",

e

2º **APPLA – Associação dos Pilotos Portugueses de Linha Aérea**, com sede em Lisboa, na Rua Frei Tomé de Jesus, nº 8, pessoa colectiva nº 500 787 620, representada pelos Ctes. Filipe Durval Ribeiro e Carlos Morgadinho, nas qualidades de Presidente e Vice-Presidente, respectivamente, adiante designada "APPLA".

Considerando:

- a) Que o Dr. Rodrigo Silva se encontra a realizar a tese de Doutoramento na Universidade de Santiago de Compostela, sobre "Radiações cósmicas e alterações do DNA.";
- b) Que o estudo a que se propõe o Dr. Rodrigo Silva apenas poderá ser realizado se a APPLA der um forte contributo institucional para o trabalho de campo e de recolha dos índices de radiação a que os Pilotos são expostos;
- c) Que a APPLA tem interesse em colaborar com o Dr. Rodrigo Silva, uma vez que os resultados da informação que este se propõe recolher poderão ser de enorme relevância para a Classe dos Pilotos;
- d) Que o referido estudo terá a duração previsível de 12 meses, com início em Maio de 2008.

É celebrado o presente Protocolo, que se rege pelos pontos seguintes:

- 1 - Pelo presente Protocolo, o Dr. Rodrigo Silva e a APPLA comprometem-se a colaborar,



no âmbito de um princípio geral de fraternidade académica.

2 - No âmbito do presente protocolo, a APPLA compromete-se a:

- a) Diligenciar no sentido de, no universo dos Pilotos Associados da APPLA, reunir um conjunto de cerca de 100 elementos, do sexo masculino, com idade superior a 35 anos e inferior a 60 anos;
- b) Diligenciar no sentido do preenchimento do questionário em anexo por parte daqueles Pilotos;
- c) Diligenciar no sentido de os Pilotos que venham a fazer parte da amostra em estudo submeterem-se a análises no início e no termo do mesmo, podendo as recolhas ser efectuadas no Gabinete Médico da APPLA;
- d) Diligenciar no sentido da utilização de dosímetros por 20 elementos da amostra.

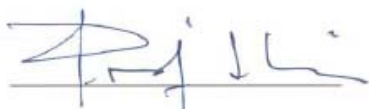
3 - No âmbito do presente protocolo o Dr. Rodrigo Silva compromete-se a:

- a) Apresentar individualmente, aos Pilotos que componham a amostra, o valor da exposição à radiação cósmica que sofreram nos seus voos reais, num período mínimo de 3 meses, sendo para tal necessário que lhe disponibilizem a informação sobre os voos realizados, com indicação do local, dia e hora da partida e chegada;
- b) Facultar à APPLA os resultados do seu estudo, bem como uma cópia da sua tese de Doutoramento;
- c) Assegurar relativamente às análises a que os Pilotos forem sujeitos, que o respectivo tratamento será efectuado pelo laboratório da Universidade Nova de Lisboa - Departamento de Química, e os seus resultados serão confidenciais;
- d) Assegurar que a leitura do valor de exposição retirada de cada dosímetro será tratada pela Medical Consult - Consultoria e Formação em Tecnologias da Saúde, Lda., com carácter confidencial.

4 - O presente Protocolo entra em vigor na data da respectiva assinatura e vigorará pelo

prazo de 18 meses, automaticamente renovável por períodos de 12 meses, salvo denúncia expressa comunicada por uma à outra Parte com a antecedência mínima de 60 dias relativamente ao final do período que então estiver a decorrer.

Feito em duas vias, em Lisboa, aos 14 de Março de 2008

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'R. Silva', written over a horizontal line.

(Dr. Rodrigo Silva)

A stylized handwritten signature in blue ink, written over a horizontal line.

(Pela APPLA)

Anexo II - Protocolo de Colaboração com FCT



[Handwritten signature]

[Handwritten mark]

PROTOCOLO DE COLABORAÇÃO

Entre:

Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, sita no *Campus* de Caparica, 2829-516 Caparica, daqui por diante designada por 1º OUTORGANTE, Pessoa Colectiva de direito público com o n.º 505954702, neste acto representada pelo seu Director, Professor Doutor Fernando José Pires Santana.

E

Rodrigo Oliveira Silva, residente na Rua da Escola Primária, nº 235, 3730-224 Vale de Cambra, portador do B.I. n.º 2700718, adiante designado por 2º OUTORGANTE.

CONSIDERANDO

Que o 2º OUTORGANTE está a realizar um doutoramento na Universidade de Santiago de Compostela no qual se insere a **investigação do tema da influência a nível biológico e medição de radiações cósmicas**

Que o 1º OUTORGANTE, é uma instituição de ensino superior ligada à Ciência e à Tecnologia que, no âmbito de um princípio geral de fraternidade académica, tem interesse em reconhecer e aprofundar os estudos sobre as matérias científicas em todas as áreas da sua actividade.

É celebrado o presente Protocolo de cooperação, o qual se regerá pelo disposto nas cláusulas seguintes:

1ª

Pelo presente Protocolo as partes comprometem-se a colaborar na investigação do Projecto que tem como objecto o estudo da influência a nível biológico e medição de radiações cósmicas.

2ª

- 1- O 1º OUTORGANTE compromete-se a realizar testes e análises em amostras biológicas que se mostrem necessárias no âmbito do desenvolvimento do Projecto, bem como, ao auxílio logístico necessário para a manutenção dessas amostras.
- 2- Os testes e análises a realizar, bem como os protocolos de recolha de amostras, serão previamente acordados pelos dois outorgantes.

4ª

O 2º OUTORGANTE responsabiliza-se pela coordenação com outras entidades (nomeadamente a APPLA, Associação Portuguesa Pilotos de Linha Aérea) participantes do estudo a realizar, bem como pela obtenção e certificação das amostras em estudo.

5ª

O Grupo de Trabalho que irá desenvolver o Projecto é constituído por:

- Dr. Rodrigo Silva;
- Prof.ª Doutora Alice Pereira (Professora Auxiliar do Dept.º Química);
- Prof. Doutor Pedro Tavares (Professor Auxiliar do Dept.º Química);
- Prof.ª Doutora Cristina Timóteo (Investigadora Auxiliar e Professora Auxiliar Convidada do Dept.º Química);
- Prof. Doutor Rui. O. Duarte (Investigador Auxiliar e Professor Auxiliar Convidado do Dept.º Química);
- Colaboradores directos (estudantes de doutoramento e pós-doutoramento) dos supracitados.

6º

- 1- O desenvolvimento do Projecto decorrerá nas instalações do 1.º OUTORGANTE e da Universidade de Santiago de Compostela.
- 2- No caso do 1.º OUTORGANTE, serão utilizados laboratórios de investigação e equipamentos do Departamento de Química e do Laboratório Associado Requimte.

7ª

Os direitos de propriedade intelectual que venham a ser desenvolvidos no âmbito do Projecto, bem como as condições de exploração comercial e de publicação de resultados da investigação em publicações especializadas, serão atribuídos às Outorgantes em termos a acordar.

8ª

- 1- As Partes obrigam-se reciprocamente a utilizar a referida informação que lhes for facultada pela outra Parte, única e exclusivamente para efeitos e no âmbito do presente Protocolo, abstendo-se de qualquer uso fora daquele contexto e independentemente dos fins, quer em benefício próprio, quer de terceiros, e a considerar como estritamente confidenciais todos os dados tecnológicos e de natureza comercial do outro Outorgante.
- 2- Cada uma das Partes compromete-se a observar estritamente as indicações que lhe forem pontualmente transmitidas pela outra relativamente à divulgação da informação confidencial, devendo ainda consultar previamente a última, sempre que tenha dúvidas relativamente à possibilidade de divulgação de determinada informação.

9º

- 1- As condições do presente Protocolo poderão ser revistas por acordo entre ambos os signatários a todo o tempo.
- 2- O cumprimento deste Protocolo efectuar-se-á através de acções consensualmente acordadas, expressas, nomeadamente, em documentos autónomos ou protocolos adicionais.

10ª

Este Protocolo entrará em vigor na data da sua assinatura e vigorará por tempo indeterminado, enquanto nenhuma das partes o denunciar, sendo que em caso de efectiva denuncia por qualquer das partes, o fim do protocolo só será efectivo passados três (3) meses sobre a notificação à outra parte da intenção de terminar a colaboração.

11ª

- 1- O presente Protocolo rege-se pela lei portuguesa.
- 2- Em caso de litígio quanto à interpretação e execução do presente protocolo será competente o Tribunal da Comarca de Almada, com expressa renúncia a qualquer outro.

Assinado no Monte de Caparica, aos 14 dias do mês de Março de 2008, em três vias de igual teor e forma.

O 1.º Outorgante



(Professor Doutor Fernando Santana)

O 2.º Outorgante



(Dr. Rodrigo Oliveira Silva)

Anexo III - Informação de Serviço

Associação dos Pilotos Portugueses de Linha Aérea

INFORMAÇÃO Nº
04/2008

TELEFONE: 21 792 6810 RUA FREI TOMÉ DE JESUS, 8
FAX: 21 792 6815 1749-057 LISBOA
EMAIL: appla.gera@appla.pt PORTUGAL



**ASSUNTO: Questionário sobre o estudo das
radiações cósmicas**

Caros Associados,

Conforme informação que foi publicada na edição do Por Dentro de Janeiro de 2008, a APPLA está a promover a realização de um estudo sobre as radiações cósmicas na actividade profissional dos Pilotos.

Os resultados deste importante estudo servirão para validar os conhecimentos actuais sobre esta importante matéria, e fundamentar a nossa argumentação referente às especificidades da nossa profissão.

Para que o referido estudo tenha validade científica é preciso que a recolha de dados seja efectuada a Pilotos no activo, entre os 35 e os 60 anos. O grupo-alvo será seleccionado aleatoriamente de uma bolsa de voluntários.

Nestes termos vimos pela presente solicitar a todos os Senhores Associados a participação na Bolsa de Voluntários, através do preenchimento do questionário confidencial anexo, sua posterior colocação no envelope junto e depósito na caixa de correio APPLA / SPAC do TTA, ou enviados para o Secretariado da APPLA, ao cuidado de Célia Alves.

Este estudo, integrado na tese de doutoramento do Dr. Rodrigo Silva, em Saúde Pública/Medicina Preventiva, com expressão – “Radiações Cósmicas e Alterações de DNA...” depois de concluído ficará disponível para utilização pela APPLA na defesa das condições de trabalho dos Pilotos, e estará disponível na biblioteca, para consulta dos Associados.

Certos da V. colaboração para o futuro de todos nós, agradecemos a V. participação.

A Direcção

2008-03-17

Anexo IV – Credencial



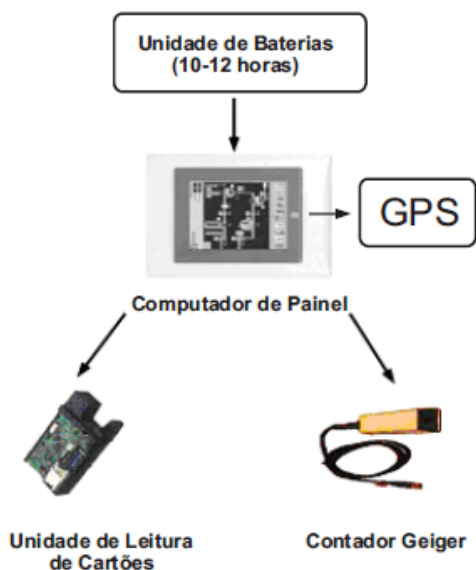
To whom it my concern.

Dr. Rodrigo Silva will be carrying a box kit which contains non-pathogenic, non-toxic and non-hazardous biologic samples for scientific research only. The box kit has no commercial value.

In case of any questions please contact Prof. Pedro Tavares at Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa (phone: 351-212949659; email: pedro.tavares@dq.fct.unl.pt).

Pedro Tavares
Prof. Aux., DQ

Anexo V – Protótipo

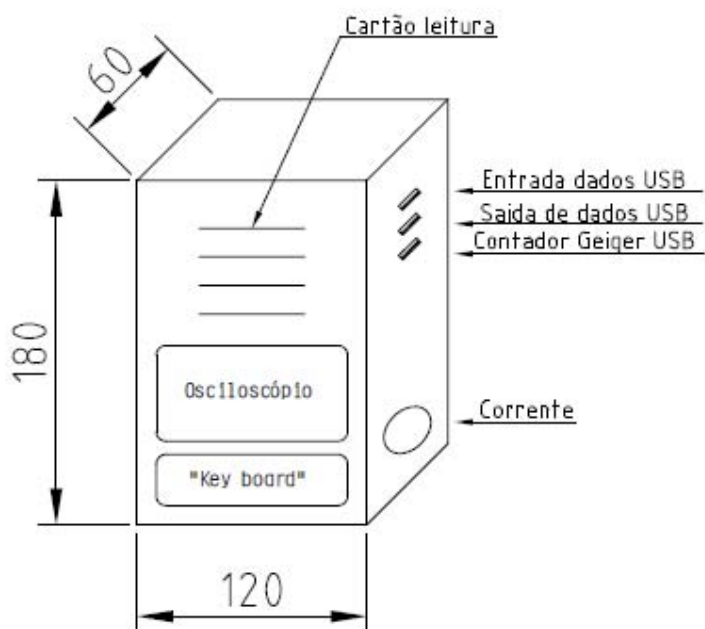


Esquema geral do protótipo. Computador industrial com interface tátil e software desenvolvido para controlo do TEPC, leitor de cartões individuais (por piloto) e GPS

Esta unidade será aplicada no interior do cockpit em local de fácil acesso, não interferindo com a ergonomia deste, tendo como dimensões: altura 180mm, largura 120mm e profundidade 60mm.

Está previsto, este dispositivo seja ligado á energia eléctrica do avião, utilizando também uma fonte de alimentação autónoma.

Para além do contador Geiger, e da unidade de leitura de cartões magnéticos, conta também com GPS, que permite obter as coordenadas geográficas de cada voo, que poderão ser utilizados, na aferição dos métodos indirectos, neste caso particular Cari-6.



O registo das doses recebidas, aqui obtidas por método directo, será feito num cartão de memória adequado ao sistema de registo, para uso pessoal de cada piloto, e intransmissível, que desde que acomodado no cockpit o introduzirá numa das 4 ranhuras existentes neste dispositivo para o efeito, e que a figura do esquema acima representa.

Pode dizer-se, que a qualquer momento, e com a utilização deste cartão magnético, qualquer piloto, caso o pretenda, pode obter os resultados desta medição, tendo para tal que se deslocar á APPLA, onde existirá um outro dispositivo que fará a sua leitura.

Cada cartão, será para utilização anual, ficando os registos dos valores obtidos em processo próprio na APPLA seguindo o princípio da confidencialidade.

